

**Einfluss von antioxidativen Faktoren  
auf die Entwicklung früher atherosklerotischer  
Veränderungen der A. carotis communis**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Doktors der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Thanh-Loan Brigitte Luu  
geb. am 06.06.1984 in Trier

Gießen 2013

Aus der Medizinischen Klinik I  
des Zentrums für Innere Medizin

Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH  
Standort Gießen

Direktor: Prof. Dr. med. C. Hamm

1. Gutachter: Prof. Dr. med. D. Sedding

2. Gutachter: Prof. Dr. med. I. H. Akintürk

Tag der Disputation: 27.11.2013

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Hintergrund dieser Arbeit	1
1.2 Epidemiologie	3
1.3 Pathogenese	4
1.4 Oxidativer Stress	9
1.5 Antioxidative Schutzmechanismen	13
1.5.1 Glutathion-Peroxidase-System	14
1.5.2 Protein-Tyrosin-Phosphatase-1b (PTP-1B)	17
1.6 Risikofaktoren und deren Auswirkungen auf die Arterienwand	18
1.7 Extrakranielle hirnversorgende Gefäße / IMT	24
1.8 Zielsetzung der Arbeit	27
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>28</b>
2.1 Studienaufbau	28
2.1.1 Probandenrekrutierung	28
2.1.1.1 Einschlusskriterien	28
2.1.1.2 Ausschlusskriterien	28
2.1.2 Anzahl, Alter und Geschlecht der Probanden	30
2.1.3 Aufklärung über Studie	30
2.1.4 Probandenfragebogen	31
2.1.5 Blutdruckmessung und Erfassung anthropometrischer Daten	31
2.1.6 Blutentnahme und Weiterverarbeitung	31
2.1.7 Ultraschalluntersuchung der extrakraniellen Hirngefäße	32
2.2 Laborbestimmungen	33
2.2.1 Technisches Material und Chemikalien	33
2.2.2 Chol, Trigl, HDL, LDL, HCY, LP a, Gluc, Selen	35
2.2.3 oxLDL	35
2.2.4 Antioxidative Enzyme	37
2.2.4.1 Zelluläre Glutathion-Peroxidase 1	37
2.2.4.2 Glutathionreduktase	38

2.2.4.3 Superoxiddismutase .....	39
2.2.5 Weitere Blutwerte .....	40
2.2.5.1 Protein .....	40
2.2.5.2 Protein-Tyrosin-Phosphatase .....	40
2.2.5.3 Hämoglobin.....	41
2.3 Methode Ultraschalluntersuchung .....	42
2.4 Statistische Auswertung .....	44
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>45</b>
3.1 Klinische Daten .....	45
3.2 Klinische Chemie.....	46
3.3 Aktivität der antioxidativen Enzyme.....	46
3.4 Intima-Media-Dicke .....	47
3.5 ox-LDL, Selen, Protein .....	50
3.6 Korrelative Betrachtungen.....	51
3.6.1 Anthropometrische Daten und IMT .....	53
3.6.2 Klinische Chemie und IMT .....	54
3.6.3 Antioxidantien und IMT .....	55
3.6.4 PTP und IMT .....	55
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>56</b>
<b>5. Zusammenfassung .....</b>	<b>64</b>
<b>6. Summary .....</b>	<b>65</b>
<b>7. Anhang .....</b>	<b>66</b>
7.1 Abkürzungsverzeichnis .....	66
7.2 Abbildungsverzeichnis.....	67
7.3 Tabellenverzeichnis.....	67
7.4 Erhobene Daten der Studie .....	68
<b>8. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>89</b>
<b>9. Danksagung .....</b>	<b>100</b>
<b>10. Erklärung zur Dissertation.....</b>	<b>101</b>

# 1. Einleitung

## 1.1 Hintergrund

Die Atherosklerose stellt heutzutage als pathophysiologische Grundlage von vielen unterschiedlichen angiologischen, kardiologischen sowie neurologischen Krankheitsbildern eine medizinisch als auch volkswirtschaftlich sehr bedeutende Erkrankung dar.

Es handelt sich hierbei laut Definition der WHO um eine Erkrankung der Arterien, bei der es zu einer variablen Kombination von Veränderungen der Arterienintima und -media kommt, die mit einer herdförmigen Anhäufung von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen sowie mit der Bildung eines fibrösen Gewebes und mit Kalkablagerungen einhergeht (WHO, 1958).

Im Laufe der letzten Jahrzehnte hat sie sich zu der am häufigsten auftretenden Krankheit in den Industrieländern entwickelt, dessen Auftreten mit steigendem Lebensalter zunimmt (Benetos et al. 2002). Da sich das durchschnittliche Lebensalter durch den heutigen Fortschritt in Technik und Medizin insbesondere in den Industrieländern erhöht hat (Tivig et al. 2007) und die Lebenserwartung stetig ansteigt, sind immer mehr Menschen von ihr betroffen. Daher ist es wichtig, dass man diese Erkrankung näher erforscht und versucht Wege zu finden, ihr Auftreten bzw. ihre Progredienz zu verhindern.

Sie wurde weltweit von vielen Arbeitsgruppen intensiv untersucht und es wurde eine Reihe von Erkenntnissen über sie gemacht, doch dennoch ist sie bis heute eine nicht vollends verstandene Erkrankung, die in einem riesigen, noch nicht zu Ende untersuchtem Netzwerk von verschiedenen Einflüssen und Faktoren zu stehen scheint. Als klassische Risikofaktoren haben sich die arterielle Hypertonie, der Diabetes mellitus, die Hyperlipidämie und das Zigarettenrauchen sowie das Alter erwiesen, die die Entstehung und Progredienz der Atherosklerose begünstigen.

Immer häufiger wird auch oxidativer Stress mit der Entstehung von atherosklerotischen Veränderungen der Arterien in Verbindung gebracht.

Ergebnisse aus klinischen sowie experimentellen Studien lassen einen Zusammenhang vermuten und es bedarf einer näheren Untersuchung dieses möglichen Risikofaktors.

In der vorliegenden Dissertationsschrift galt das Interesse daher der Untersuchung der antioxidativen Systeme des menschlichen Körpers und deren Einfluss auf die frühen atherosklerotischen Veränderungen an der A. carotis communis sowie weiteren Blutparametern, die als prädiktive Marker für die Atherosklerose-Entwicklung in Frage kommen könnten.

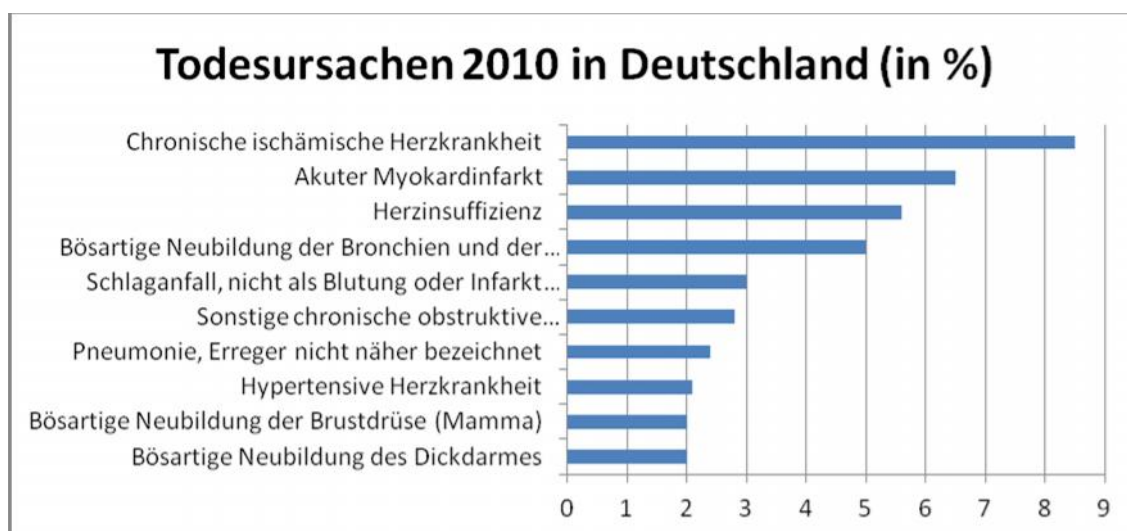
## 1.2 Epidemiologie

Als "Volkskrankheit" der Industriestaaten stellen die Atherosklerose und ihre Folgeerkrankungen auch in Deutschland eine der häufigsten Erkrankungen dar (Statistisches Bundesamt Wiesbaden, 2010). Aktuell leiden hier ca. 8 Millionen Menschen unter den von ihr verursachten Beschwerden. Als wichtigste Folgeerkrankungen sind der Myokardinfarkt, der ischämische Hirninfarkt und die Gangrän der Extremitäten zu nennen.

Der Myokardinfarkt und der ischämische Hirninfarkt stellen nach Angaben der WHO mit 17 Millionen (WHO, 2004) jährlichen Todesfällen die häufigsten Todesursachen in den westlichen Industrieländern dar.

Allein die durch die Atherosklerose bedingten kardiovaskulären Erkrankungen sind Ursache für 30 % aller Todesfälle bei 30- bis 65-Jährigen in Industrieländern (WHO, 2005). In höheren Altersgruppen steigt der Anteil der Todesfälle sogar auf über 50 %.

Auch in Deutschland stellen die Herz- und Kreislauferkrankungen die Todesursache Nummer 1 bei Menschen über 65 Jahren dar (Statistisches Bundesamt Wiesbaden, 2010).



**Abb. 1 Todesursachen 2010 in Deutschland** (nach Statistisches Bundesamt Wiesbaden, 2010); Sterbefälle insgesamt 2010 nach den 10 häufigsten Todesursachen der International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD-10)

### 1.3 Pathogenese

Die Atherosklerose ist eine Systemerkrankung, die nicht auf ein einzelnes Gefäß beschränkt bleibt und deren Entstehung den klinischen Symptomen oft um viele Jahre vorausgeht.

Schon in Arterien von Kindern wurden in der Studie von Stary (1987) Einlagerungen von Lipiden und Schaumzellen in die Gefäßwand als Frühzeichen der Atherosklerose gefunden. In diesem Stadium macht die Atherosklerose aber keine klinischen Symptome.

Das weitere Voranschreiten der atherosklerotischen Veränderungen bleibt solange klinisch stumm bis die Schädigungen der Gefäßwand in einen irreversiblen Zustand mit Lumeneinengung durch Ausbildung einer atherosklerotischen Plaque und Verschluss des arteriellen Gefäßes meist durch Plaqueruptur und anschließender Bildung eines Blutgerinnsels mit nachfolgender Minderversorgung und Nekrose des umliegenden Gewebes übergehen. Je nach betroffener Gefäßregion und Ausmaß kann dieser Endzustand der Erkrankung eine lebensgefährliche Situation, wie z. B. bei einem Herzinfarkt durch Koronararterienverschluss, für den betroffenen Patienten darstellen.

Um weitere neue Therapieansätze finden zu können, ist es daher wichtig zu verstehen, wie es zu einem solchen Gefäßverschluss kommt.

Die krankhaften Veränderungen der Arterienwände entstehen durch einen langsam fortschreitenden chronischen Entzündungsprozess, der über Verhärtung, Verdickung, Elastizitätsverlust und anschließender Lumenverengung bis hin zum Verschluss der Arterien mit anschließender Versorgungseinschränkung der betroffenen Organe führt. Von diesem Prozess betroffen sind hauptsächlich die mittelgroßen und großen arteriellen Gefäße, wie die Aorta, die Koronarien, die Karotiden, Mesenterial-, Iliakal- und Femoralarterien (Gerok et al. 2007), die im systemischen Kreislauf hohen Blutdruckwerten ausgesetzt sind.

Es gibt eine Reihe von Theorien und Hypothesen für die Entstehung der Atherosklerose, wobei die 1976 vom amerikanischen Atheroskleroseforscher Russell Ross vorgestellte „response to injury“-Hypothese die heute am breitesten akzeptierte Hypothese als pathogenetische Grundlage der Atherosklerose darstellt. Dieser Hypothese zufolge ist das Auftreten der Atherosklerose durch Verletzungen des Endothels bedingt. Diese Verletzungen wiederum entstehen durch mechanische, toxische, immunologische oder biochemische Noxen.

Die normale Arterienwand besteht vom Gefäßlumen nach außen betrachtet aus den drei Schichten Tunica intima (Intima), Tunica media (Media) und Tunica adventitia (Adventitia).



1. Tunica intima, auch Intima: Sie besteht aus einem einschichtigen flachen Endothel sowie dem darunter liegenden subendothelialen Stroma, einer dünnen, zellarmen, lockeren Bindegewebeschicht. Durch die darauf folgende Lamina elastica interna wird sie von der Tunica media abgegrenzt. Die Intima dient dem Stoff-, Gas- und Flüssigkeitsaustausch durch die Gefäßwand.

Die Intima bildet wie bereits oben beschrieben die am weitesten lumenwärts liegende Schicht. Sie ist an unterschiedlichen Arterienabschnitten unterschiedlich dick. Diese Tatsache ist durch die physiologische Anpassung des Gefäßes bedingt und kein Frühzeichen der Atherosklerose. Arterienabschnitte mit verdickter Intima stellen allerdings Prädilektionsstellen für die spätere atherosklerotische Plaquebildung dar. Dies liegt daran, dass bei Hyperlipidämie die Lipide verstärkt in dickeren als in dünneren Intimaabschnitten abgelagert werden.

2. Tunica media, auch Media: Diese besteht aus ringförmig verlaufenden Schichten glatter Muskelzellen und elastischen Fasern. Auf die Media folgt wiederum eine sehr dünne Schicht dicht gelagerter elastischer Fasern, die Lamina elastica externa. Hieran schließt sich die Adventitia, eine lockere Bindegewebeschicht, an. Die Media reguliert durch die vegetative Innervation ihrer Muskelschicht die Gefäßweite der Arterien und damit die Zirkulation des Blutes.

3. Tunica adventitia, auch Adventitia: Sie wird durch die Lamina elastica externa von der Media abgegrenzt. Sie besteht aus lockerem Bindegewebe sowie elastischen Fasern und enthält Nervenzellen und Mastzellen. Des Weiteren stellt sie den Ursprung der Vasa vasorum dar, die die äußeren zwei Drittel der Media mit Blut versorgen, während das innere Drittel durch Diffusion ernährt wird. Die Adventitia verbindet die Gefäße locker mit der Umgebung.

Die wesentlichen zellulären Komponenten der Arterienwand sind die glatten Muskelzellen (Myozyten) der Tunica media sowie die Endothelzellen der Tunica intima. Durch endotheliale Produktion von Faktoren, die die Myozyten der Media an der Proliferation hemmen, sind die beiden Komponenten strukturell und metabolisch miteinander verbunden.

Zur physiologischen Endothelfunktion zählt die Kontrolle der Durchgängigkeit für Zellen, der sogenannten Permeabilität. Das Endothel muss in der Lage sein, die Passage von bestimmten Molekülen zu verhindern, aber gleichzeitig anderen Molekülen dies zu ermöglichen. Die einzelnen Endothelzellen sind hierbei durch tight

junctions, welche membranösen Verbindungsproteinen entsprechen, miteinander verbunden. Abhängig von der Anzahl der aufeinander folgenden tight junctions zwischen zwei benachbarten Endothelzellen wird der Transport von Molekülen durch die Interzellularspalten ermöglicht. Hierdurch erlangt das Endothel die sogenannte Barrierefunktion. Auf diese Weise kontrolliert es unter anderem die Einwanderung von Entzündungszellen.

Eine weitere wesentliche Funktion des Gefäßendothels ist die Erkennung von aus dem Blutkompartiment stammenden Signalen durch Ausbildung von bestimmten Rezeptoren auf der Oberfläche, wie z. B. Adhäsionsmoleküle und MHC-Klasse-II-Komplexe. So wird bei einem bakteriell entzündlichen Prozess die Leukozytenanheftung an das Endothel beispielsweise über die Adhäsionsmoleküle P-Selektin und E-Selektin (Wolitzky 1996) vermittelt. Dieser Vorgang mit der Auswanderung von Leukozyten in das Gewebe ist entscheidend für die körpereigene Abwehr, da Leukozyten über eine Vielzahl von Wirkstoffen verfügen, die die Krankheitserreger unschädlich machen können.

Eine weitere Funktion des Gefäßendothels stellt die Freisetzung von Mediatoren dar, welche die Plättchenaggregation und Blutgerinnung hemmen sowie den Gefäßtonus modulieren und die Proliferation der Myozyten hemmen. Eines der wichtigsten Wirkstoffe ist hierbei das Stickstoffmonoxid (NO), welches zunächst nach der Entdeckung im Jahr 1980 durch Robert Furchgott auch unter der Bezeichnung endothelial derived relaxing factor (EDRF) bekannt wurde. Es spielt eine entscheidende Rolle in der Gefäßtonusregulation aufgrund seiner vasodilatativen Wirkung, ist aber auch antiaggregatorisch, antiinflammativ und antiproliferativ wirksam. Es inhibiert die Expression von Adhäsionsmolekülen auf der Endotheloberfläche und vermindert somit eine Anhaftung von potentiell schädlichen Substanzen.

Zu den weiteren Schutzmechanismen, die einer Plättchenaggregation und Blutgerinnung entgegenwirken, zählen außerdem Prostazyklin I<sub>2</sub>, antikoagulatorische Substanzen wie Thrombomodulin, Aktivatoren der Fibrinolyse wie Gewebeplasminogenaktivator.

Durch unterschiedliche Stimuli oder Noxen sowie insbesondere bei Vorliegen von Risikofaktoren der Atherosklerose wird das fein abgestimmte Gleichgewicht zwischen vaskulärem Endothel, Blut und Blutbestandteilen gestört. Es kommt zunächst zu einer Veränderung der Endothelzellfunktion, also einer endothelialen Dysfunktion, und in Folge unter anderem über die reduzierte NO-Freisetzung zu einer Endothelzellschädigung.

Das Endothel wird durch die Schädigung durchlässiger, woraufhin sich vermehrt Lipide in der Intima anreichern können.

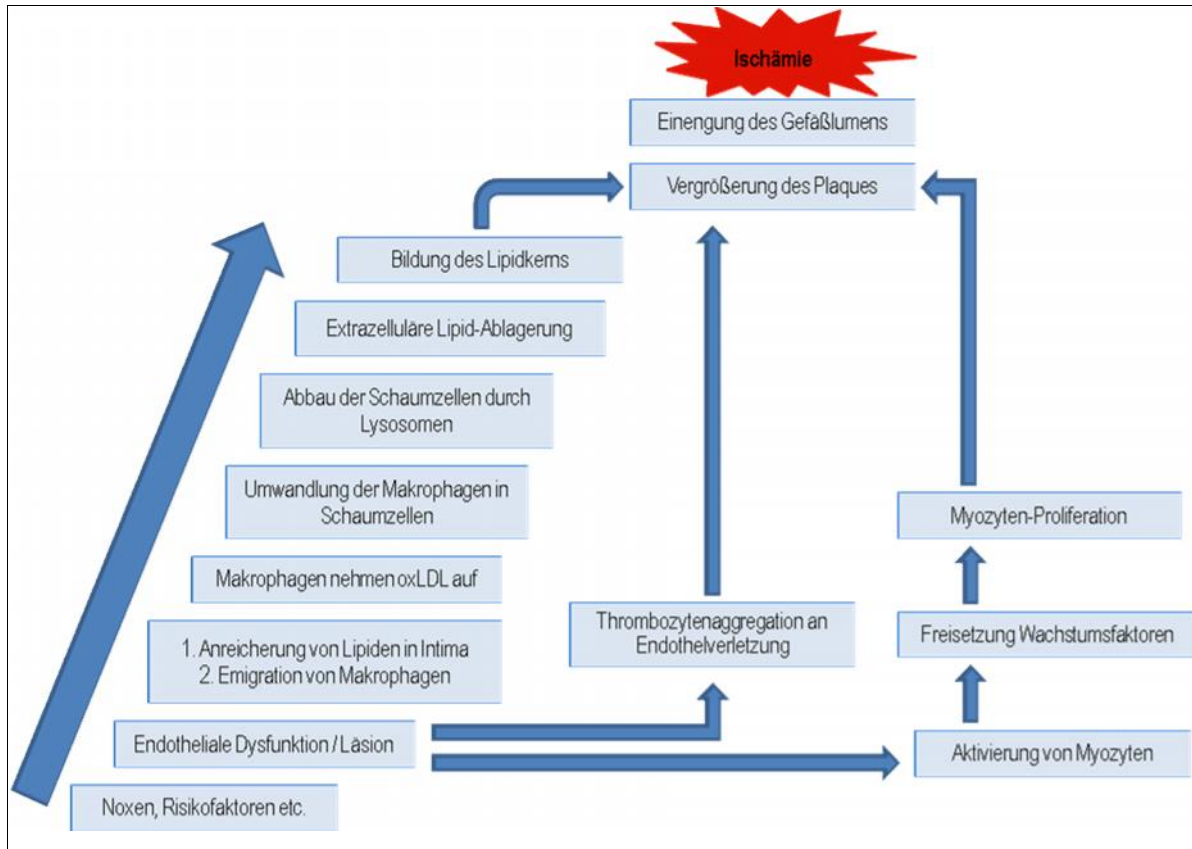
Des Weiteren bildet die geschädigte Endothelzelle vermehrt Adhäsionsmoleküle auf ihrer Oberfläche, die eine vermehrte Bindung von Makrophagen bzw. Monozyten an das Endothel und zu deren Einwanderung in die Intima bedingen.

Die Makrophagen wandeln sich durch Aufnahme von LDL (low density lipoprotein), das oxidiert (zu oxLDL) und damit toxisch verändert wird, dann in Schaumzellen um. Der anschließende Untergang dieser Schaumzellen führt zu extrazellulären Ablagerungen von Lipiden, die sich verbinden und letzten Endes den Lipidkern des atherosklerotischen Plaques bilden.

Gleichzeitig kommt es zu einer vermehrten Proliferation der glatten Muskelzellen der Media, die durch Wachstumsfaktoren und Zytokine der aktivierten Muskelzellen verursacht wird.

Aufgrund des geschädigten und somit lückenhaften Endothelverbands binden Thrombozyten an das subendotheliale Bindegewebe und setzen hochaktive Substanzen frei, die zum einen zur Verstärkung der Thrombozytenaggregation und zum anderen zur weiteren Proliferation der glatten Muskelzellen der Media führen.

Die Anhäufung der Lipide, die Schädigung des Endothels und somit der Intima sowie die vermehrte Ablagerung von thrombotischen Material an den Einrisstellen der Intima führt zu einer Vergrößerung des Plaques und demzufolge zu einer zunehmenden Verengung des Gefäßlumens, die dann beim Betroffenen symptomatisch werden kann. Man unterscheidet stabile und instabile Atheroskleroseplaques. Während die stabilen Plaques einen kleinen Lipidkern und eine dicke fibröse Kapsel aufweisen, liegen bei der instabilen Plaque ein großer Lipidkern und eine dünne Kapsel vor. Deswegen neigt die instabile Plaque eher dazu zu rupturieren. Die Folge ist eine Kontaktaktivierung des Gerinnungssystems und Bildung eines thrombozytenreichen Pfropfes, welches einen Infarkt des vom arteriellen Gefäß versorgten Gebietes zur Folge haben kann.



**Abb. 2 Entstehung einer atherosklerotischen Plaque** Noxen, bestimmte Umwelteinflüsse und kardiovaskuläre Risikofaktoren führen über eine endotheliale Schädigung zu einer Plaquebildung im arteriellen Gefäß, was letztendlich eine Ischämie des zu versorgenden Gebietes verursacht.

## 1.4 Oxidativer Stress

Oxidativer Stress beeinflusst die Endothelfunktion der Arterien und wird immer häufiger mit der Entstehung von Atherosklerose zusammengebracht. Erhöhter vaskulärer oxidativer Stress führt zu endothelialer Dysfunktion und erhöht das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse (Heitzer et al. 2001).

Unter oxidativem Stress versteht man hierbei die Schädigung einer Zelle infolge einer Entgiftungsstörung zelltoxischer Sauerstoffverbindungen, die auch als freie Radikale bezeichnet werden. Insgesamt besteht ein Ungleichgewicht zwischen der Produktion und Entfernung von schädlichen, oxidativ reaktiven Sauerstoffverbindungen. Man fasst diese hochreaktiven Stoffwechselprodukte unter dem Begriff der reaktiven Sauerstoffspezies (Reactive Oxygen Species, ROS) zusammen (Toyokuni 1999).

ROS entstehen unter physiologischen Bedingungen im Rahmen des oxidativen Metabolismus sowohl intrazellulär als auch extrazellulär an mehreren Orten des menschlichen Körpers bei einer Reihe von Prozessen in Form von Superoxidanionenradikalen, Hydroxylradikalen und Wasserstoffperoxid (Bayr 2005).

Die Mitochondrien stellen quantitativ gesehen die größte Quelle für ROS dar, da dort ca. 95% des eingeatmeten Sauerstoffs umgesetzt werden. Hier kann es in der mitochondrialen Atmungskette zu lückenhaften Elektronentransporten kommen, die zur Bildung von Superoxidradikalen führen.

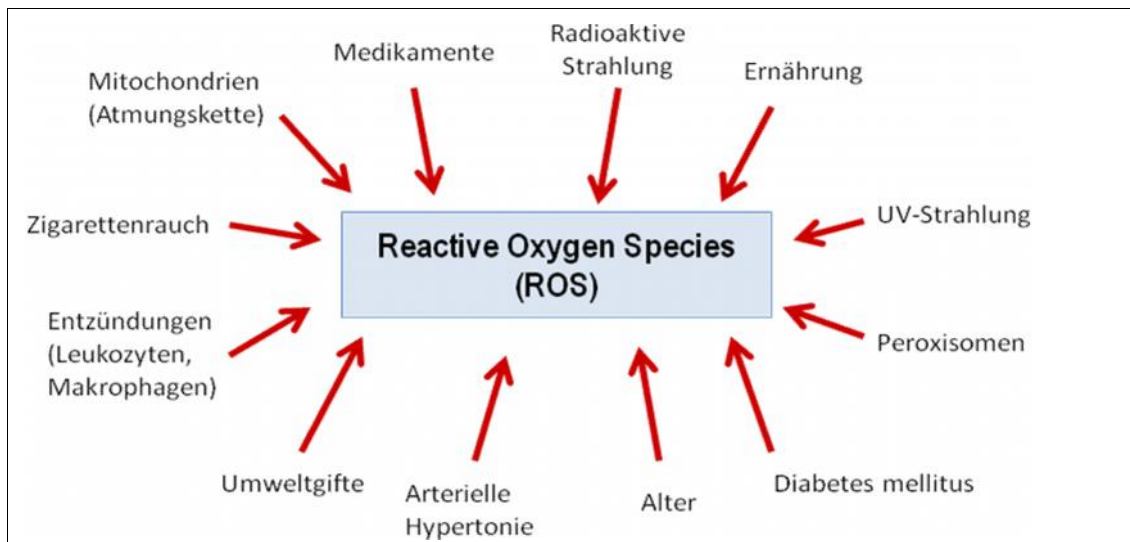
Eine zweite wichtige Quelle der ROS stellen die Peroxisomen dar, die Vesikel im Cytoplasma sind und in denen räumlich abgetrennt Entgiftungsreaktionen stattfinden. Sie enthalten Oxidasen, die Wasserstoff von verschiedenen Fremdstoffen abspalten und mit molekularem Sauerstoff zu Wasserstoffperoxid als Nebenprodukt verbinden.

Andere Ursachen für die Entstehung von ROS sind exogene Faktoren wie z. B. Umweltgifte, UV-Strahlung und Zigarettenrauch.

Die traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren der Atherosklerose wie arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Hyperlipidämie sind mit erhöhtem oxidativen Stress assoziiert. Hierbei kommt es pathophysiologisch zu einer Aktivierung der Nicotinamidadenindinucleotidphosphat-Oxidase (NADPH-Oxidase) und dadurch zu einer vermehrten Bildung von freien ROS, welche das Gefäßendothel über eine Reduktion der NO-Freisetzung schädigen können.

Beim Diabetes mellitus kommt es daher über die verminderte endotheliale NO-Produktion, welche mit der Insulinresistenz einhergeht, zu einer endothelialen Dysfunktion. So haben Rudich et al. (1997, 1998) gezeigt, dass die Insulin-abhängige Glucoseaufnahme durch Adipozyten und Muskelzellen unter oxidativem Stress reduziert ist. Durch Hinzugabe von Antioxidantien konnte die Glucoseaufnahme

anschließend wieder verbessert werden. Auch in der Studie von Ting et al. (1996) wurde festgestellt, dass die endotheliale Funktion, gemessen über die vasodilatative Kapazität des arteriellen Gefäßes, bei Diabetikern durch eine Reduktion des oxidativen Stresses durch Hinzugabe des antioxidativen Wirkstoffes Vitamin C verbessert werden konnte.



**Abb. 3 Ursachen und Entstehungsorte von ROS** Viele verschiedene Faktoren können zu einer Bildung der schädlichen ROS führen.

Bei ROS handelt es sich chemisch gesehen um Atome und Moleküle, die ein oder mehrere ungepaarte Elektronen besitzen. Einsame Elektronen streben danach, ein Elektronenpaar zu bilden und sind daher sehr reaktionsfreudig. Solche reaktionsfreudigen Sauerstoffspezies führen zu Zellschädigungen. Die betroffenen Zellen der Gefäßwand werden durch den oxidativen Stress verändert und in ihrer Funktion gestört. Es kommt z. B. zu Veränderungen von Signalkaskaden, Expression und Synthese von verschiedenen Substanzen wie Enzymen, Zytokinen, Wachstumsfaktoren etc.

Von besonderer Bedeutung sind die Schädigungen der Nucleinsäurebasen, die dann eine Veränderung der Chromosomen und somit des Erbguts verursachen können.

Auch können Proteine angegriffen werden, die dann beispielsweise nicht mehr für die Enzymproduktion zur Verfügung stehen und somit im Organismus die Reduktion von wichtigen metabolischen Abläufen bedingen. In hohen unphysiologischen Konzentrationen sind Sauerstoffradikale also zytotoxisch, weil sie eine Lipidperoxidation, Matrixdegeneration, DNA-Mutation, Zellalterung und Zelltod bedingen können.

Es stellt sich die Frage, auf welche Weise oxidativer Stress bzw. ROS zu atherosklerotischen Veränderungen der Gefäßwand führen.

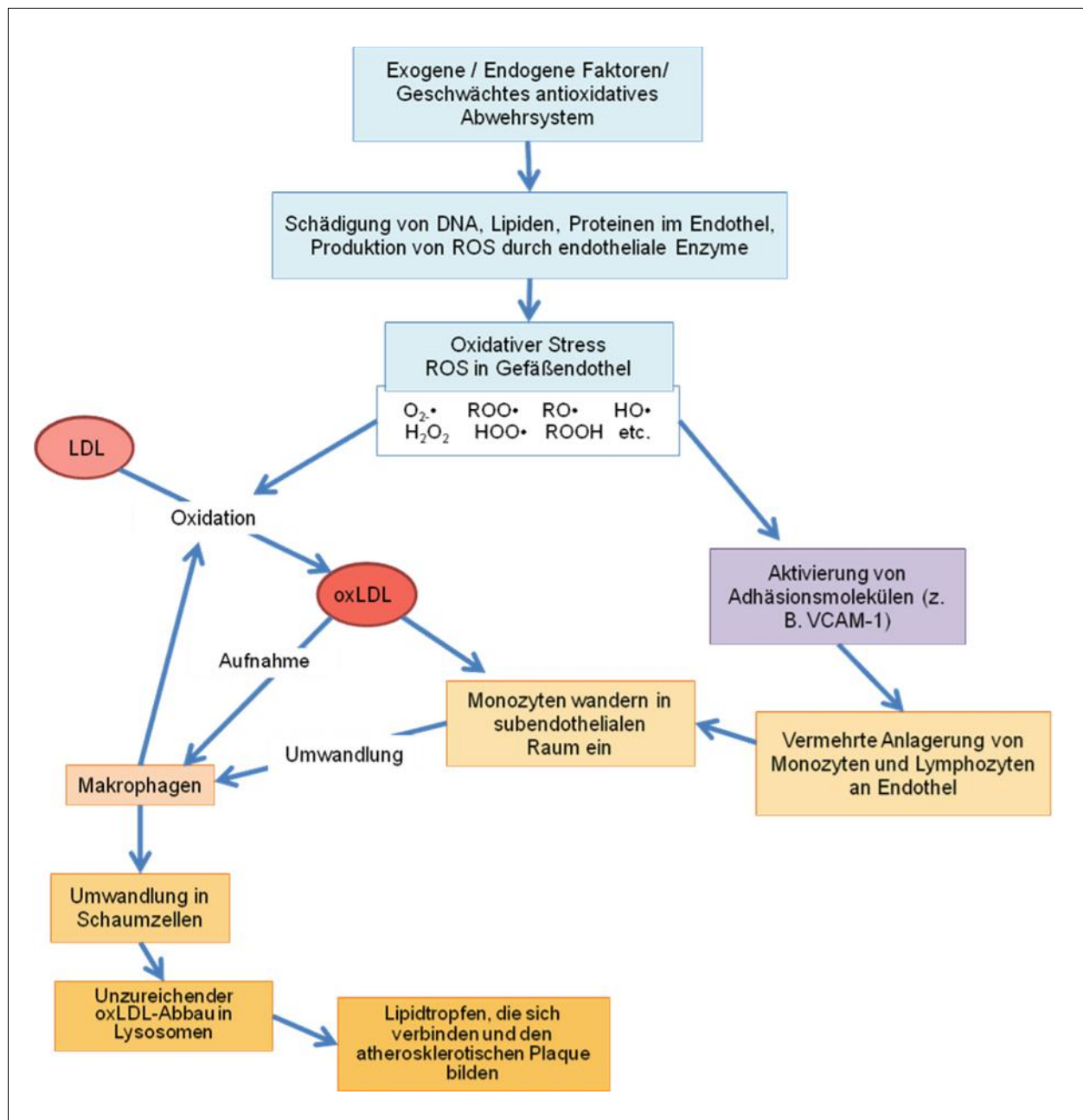
Oxidativer Stress wirkt sich auf unterschiedliche Weise auf die Gefäßwandzellen aus. Er verringert durch Bildung von ROS die Verfügbarkeit des antiatherosklerotischen Schutzfaktors NO durch Reaktion zum zytotoxischen Peroxynitrit, das zur Endothelschädigung und endothelialer Dysfunktion führt (Bassenge et al. 2005). NO wird normalerweise aus dem Endothel freigesetzt und vermittelt die Vasodilatation der Arterie. Die endothelabhängige Relaxation ist charakteristisch für das intakte Endothel der Gefäßwand und es wurde durch eine Vielzahl von Studien festgestellt, dass diese Funktion des Gefäßes bei Risikopatienten mit nicht auffälligen Gefäßen und bei Patienten mit Atherosklerose verschlechtert ist. Die durch NO-Mangel resultierende endotheliale Dysfunktion bzw. gestörte Vasoreaktivität ist ein signifikanter Prädiktor für atherosklerotische Ereignisse (Schächinger et al. 2000).

NO vermittelt, wie oben bereits beschrieben, viele unterschiedliche Reaktionen. In experimentellen Untersuchungen wird zur Quantifizierung der NO-Wirkung häufig die Gefäßdilatation (FMD = flussmedierte Vasodilatation) angewandt, da diese den am einfachsten zu messende Effekt darstellt.

Des Weiteren können ROS zur vermehrten Bildung des proatherosklerotischen oxidativ veränderten Low-Density-Lipoproteins (oxLDL) führen (Miller et al. 2005). Das modifizierte oxLDL wirkt chemotaktisch auf mononukleäre Zellen, die als Monozyten in den subendothelialen Raum wandern und dort in Makrophagen umgewandelt werden. Wie oben beschrieben kann die Oxidation von LDL auch durch die Aufnahme des LDL durch Makrophagen erfolgen, die sich dann in Schaumzellen umwandeln.

Ergebnisse aus experimentellen Untersuchungen (Kinscherf et al. 2000) zeigten, dass oxidativer Stress in Form eines Ungleichgewichts der ROS-Entstehung und des ROS-Abbaus im atherosklerotischen Plaque einen programmierten Zelltod initiieren.

ROS werden oft auch mit dem Alterungsprozess in Verbindung gebracht. Die genauen Mechanismen hierzu sind allerdings sehr komplex und nicht vollständig erforscht.



**Abb. 4 Oxidativer Stress und Atherosklerose** Pathophysiologie der durch oxidativen Stress verursachten atherosklerotischen Plaquebildung in arteriellen Gefäßen



## 1.5 Antioxidative Schutzmechanismen

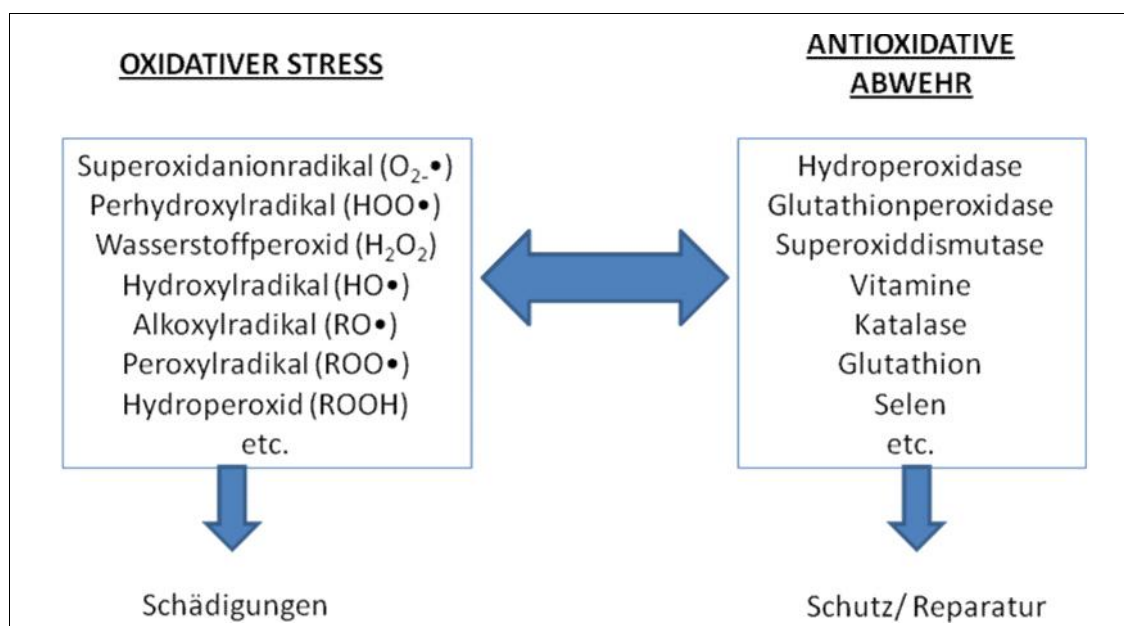
Um Zellschädigungen durch oxidativen Stress entgegen wirken zu können, verfügt der menschliche Organismus über verschiedene antioxidative Systeme, die als Radikalfänger fungieren, d. h. sie sind in der Lage, diese gefährlichen Stoffe in unschädliche Verbindungen umzuwandeln und die Konzentration der ROS auf diese Weise niedrig zu halten.

Um das schädliche Wasserstoffperoxid zu entgiften, besitzen die Peroxisomen beispielsweise das Enzym Katalase, das Wasserstoffperoxid zu Wasser umwandelt.

Hyperoxide oder Superoxide, die im Mitochondrium oder im Zytoplasma entstehen, werden von der Superoxiddismutase (SOD) zu Wasserstoffperoxid und Sauerstoff umgewandelt.

Da die Katalase sich lediglich in Peroxisomen, Lysosomen und in geringen Mengen in Mitochondrien befindet, ist sie beim oxidativen Stress im Zytoplasma ineffektiv.

Hierfür gibt es die zytosolische Glutathion-Peroxidase, die hier das Wasserstoffperoxid mit Hilfe von Glutathion zu Wasser und Sauerstoff umwandelt und somit entfernt.



**Abb. 5 Oxidativer Stress und Antioxidative Abwehr** Reaktive Sauerstoffspezies führen zu Schädigung des Organismus; dieser verfügt über eine antioxidative Abwehr in unterschiedlichen Formen

### 1.5.1 Glutathion-Peroxidase-System

Eines der wichtigsten antioxidativen Systeme ist das Glutathion-Redoxsystem, das hauptsächlich für die Abwehr von intrazellulären Peroxiden verantwortlich ist und aus den Enzymen Glutathion-Peroxidase und Glutathion-Reduktase besteht.

Unter Verbrauch von Glutathion, einem Tripeptid aus Glutamat, Cystein und Glycin, wandelt die Glutathion-Peroxidase das zelltoxische Wasserstoffperoxid in Wasser um. Dabei entsteht aus der reduzierten Thiolform des Glutathion (GSH) die oxidierte Glutathionform (GSSG). GSSG wird durch die Glutathionreduktase mit Hilfe von  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  wieder in die Thiolform reduziert, so dass es erneut für den Oxidationsschutz zur Verfügung steht.

Obwohl die Glutathion-Peroxidase ubiquitär im Organismus vorkommt, variiert doch ihr Gehalt nach Gewebe- und Zellart.

Sie gehört zu den Selenoenzymen, d. h. im aktiven Zentrum des Enzyms ist Selenocystein gebunden. Folgende selenhaltige Glutathion-Peroxidasen wurden bereits beschrieben:

Glutathion-Peroxidase	Beschreibung	Vorkommen in
GPx 1	Zelluläre/ klassische GPx	Zytosol, Mitochondrienmatrix
GPx 2	Gastrointestinale GPx	Darmschleimhaut
GPx 3	Extrazelluläre GPx	Plasma
GPx 4	Phospholipidhydroxid-GPx	Lipidmembranen

**Tab. 1 Selenhaltige Glutathion-Peroxidasen** Es existieren vier verschiedene selenhaltige Glutathion-Peroxidasen, die jeweils in unterschiedlichem Maße in unterschiedlichen Bereichen des Organismus vorkommen.

Da die Selenol-Gruppe einen nukleophilen Charakter besitzt, konnte schon damals bei Entdeckung der Glutathion-Peroxidase durch Mills et al. im Jahr 1957 die Radikalfängerfunktion des Enzyms festgestellt werden.

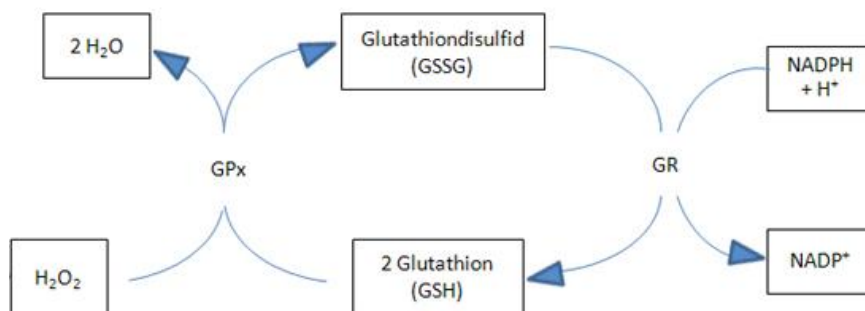
Das essentielle Spurenelement Selen bzw. die Aminosäure Selenocystein sind für die Funktion der Glutathion-Peroxidase unerlässlich. Ein Mangel an Selen führt zu einer Minderung des antioxidativen Enzymapparates des Organismus und folglich zu einer Zellschädigung durch oxidative Radikale.

Selen wird mit der Nahrung als Selenocystein oder Seleenomethionin aufgenommen.

Es ist zu beachten, dass Selen in hohen Konzentrationen toxisch ist.

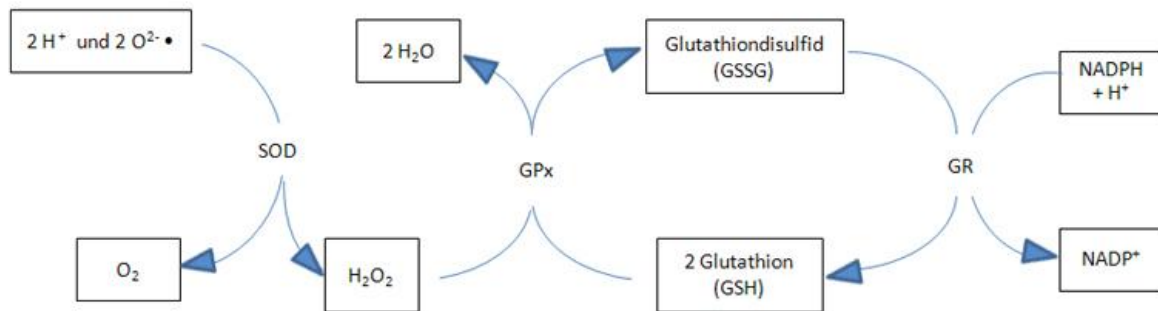
Die für diese Studie relevante zytosolische und mitochondriale Glutathion-Peroxidase-1 (GPX-1), ein tetrameres Protein, kommt hauptsächlich in Erythrozyten, in den Nieren und in der Leber vor. In den Erythrozyten ist sie vor allem verantwortlich für die Eliminierung der Sauerstoffradikale, die bei der Bildung des Methämoglobins entstehen. Sie befindet sich vor allem innerhalb der Zellen im Zytosol.

Die Glutathion-Peroxidase (GPx) und die Glutathionreduktase katalysieren folgende Reaktionen:



**Abb. 6 Glutathion-Redoxsystem** Die Glutathion-Peroxidase und Glutathionreduktase stellen die Katalysatoren dieses Systems dar und machen das reaktive Wasserstoffperoxid unschädlich, indem sie es in Wasser umwandeln.

Die Superoxiddismutase (SOD), ein weiteres antioxidatives Enzym, wandelt Superoxidanionen zu Wasserstoffperoxid um, welches anschließend vom Glutathion-Redoxsystem unschädlich gemacht wird. Es existieren zwei Isoformen des Enzyms, zum einen die Mangan-abhängige Mn-SOD in Mitochondrien und zum anderen die Zink-haltige  $Cu_2Zn_2$ -SOD.



**Abb. 7 Superoxiddismutase und Glutathion-Redoxsystem** Die Superoxiddismutase (SOD) wandelt Superoxidanionen zu Wasserstoffperoxid um, welche dann durch das Glutathion-Redoxsystem abgebaut werden.

Ergebnisse von Studien haben gezeigt, dass Patienten mit Atherosklerose bedingten Ereignissen eine niedrigere Aktivität der antioxidativen Enzyme als bei gesunden Menschen aufwiesen (Espinola-Klein et al. 2007, Zawadzka-Bartczak et al. 2005).

In tierexperimentelle Studien (Crack et al. 2001) mit Mäusen, bei denen die Produktion der GPx-1 gehemmt wurde, traten arterielle Gefäßschäden und ischämische Ereignisse häufiger und in größerem Ausmaß auf als bei Mäusen mit normalen GPx-1 Aktivitäten.

Ein Mangel der GPx-1 war des Weiteren bei Mäusen mit erhöhtem Homocysteinspiegeln mit vermehrter endothelialer Dysfunktion verbunden (Dayal et al. 2002). In diesen Untersuchungen wurde anhand von Knockout-Mäusen mit unterschiedlicher Genexpression für die GPx-1 der Einfluss von erhöhten Homocysteinspiegeln auf die endotheliale Funktion, gemessen an der Gefäßdilatation der Aorta, bestimmt.

Es ist erkennbar, dass ein Mangel an GPx-1 einen Risikofaktor für atherosklerotische Veränderungen der Gefäße zu sein scheint.

Darüber hinaus gibt es eine Reihe anderer wichtiger Risikofaktoren für die Atherosklerose, die im Folgenden erläutert werden. Sie wurden im Rahmen der vorliegenden Studie ebenfalls mit einbezogen.

### **1.5.2 Protein-Tyrosin-Phosphatase-1b (PTP-1B)**

Die PTP-1B gehört zur Gruppe der Protein-Tyrosin-Phosphatasen, welche die Desphosphorylierung von Phosphat-Gruppen an Tyrosin katalysieren. Bis in die neunziger Jahre war sie ein Enzym mit einer unbekannten Funktion. Es wurden seitdem viele Untersuchungen weltweit durchgeführt, welche eine Interaktion der PTP-1B mit dem Insulin-Rezeptor nachweisen konnten (Seely et. al 1996). Die PTP-1B trennt hierbei eine Phosphatgruppe der Insulin-Rezeptor-Tyrosin-Kinase und inhibiert somit seine Funktion, was wiederum zu einer verminderten Insulinsensitivität mit daraus folgender diabetischer Stoffwechsellaage führt (Shi et. al 2004, Dadke et al. 2001).

Des Weiteren wird der PTP-1B eine wichtige Rolle in der Dephosphorylierung der das Zellwachstum betreffenden Rezeptor-Tyrosin-Kinasen zugeschrieben. Die Angiogenese wird beispielsweise zu einem großen Teil durch das Signalmolekül VEGF (vascular endothelial growth factor) über die Rezeptor-Tyrosin-Kinase VEGFR (vascular endothelial growth factor receptor) reguliert (Chen et al. 2012), welches zu einer Teilung der Endothelzellen führt.

Eine inadäquate Angiogenese führt im Rahmen des Diabetes mellitus über mikrovaskuläre Schädigungen mit atherosklerotischen Gefäßwandveränderungen zu Endorganschäden.

Müller (2008) hat in seinen tierexperimentellen Untersuchungen beobachtet, dass eine erhöhte Aktivität der GPx-1 sowie erhöhte Selenkonzentrationen mit einer vermehrten PTP-1B-Aktivität einhergehen. Somit galt es in unseren Untersuchungen auch zu untersuchen, ob die PTP-1B einen Einfluss auf die IMT, möglicherweise über den Effekt der GPx-1, hat.

## 1.6 Risikofaktoren und deren Auswirkungen auf die Arterienwand

Der Entstehung von atherosklerotischen Gefäßveränderungen liegt eine Reihe von Risikofaktoren zugrunde, die sich aus genetischen Faktoren und Umweltfaktoren zusammensetzen.

### a. Alter

Das Risiko der Atherosklerose-Entstehung steigt mit zunehmendem Alter. Die ersten Lipideinlagerungen in die Gefäßintima der Aorta beginnen bereits bei Kindern im Alter < 10 Jahren. In der zweiten Lebensdekade finden dann die ersten Lipideinlagerungen in den Koronarien statt (Kumar et al. 2007). Die natürliche Alterung der Gefäße ist mit einem zunehmenden Elastizitätsverlust verbunden, der durch die vermehrte Einlagerung von Bindegewebe statt elastischen Fasern bedingt ist. Es kommt zu einer diffusen Verdickung der Intima und einer Verhärtung der Gefäßwand (Hansen et al. 2007). Das Alter stellt einen wichtigen Risikofaktor dar, weil durch den zunehmenden Elastizitätsverlust des Gefäßes die Versorgung der Zellen nicht mehr gewährleistet wird. In der Folge wird das Gefäß durch den mangelnden Stoffaustausch zunehmend anfälliger für Verletzungen. Diese Verletzungen in der Gefäßwand bzw. des Endothelzellverbundes, die unter anderem durch die fehlende Sauerstoffversorgung entstehen, heilen in Form von Narben aus, an die sich bevorzugt Cholesterin, Lipide und Calciumverbindungen lagern. Es kommt infolgedessen zur Atherosklerose typischen Plaquebildung mit Lumeneinengung des Gefäßes.

Der natürliche Alterungsprozess der Arterien selbst kann also nicht als Atherosklerose bezeichnet werden, trägt aber zur Entwicklung dieser Erkrankung in ausgeprägtem Maße bei, weshalb das Alter des Menschen als eines der wichtigsten Risikofaktoren der Atherosklerose gilt.

### b. Männliches Geschlecht

Bei Männern manifestiert sich die Atherosklerose im Vergleich zu Frauen durchschnittlich 10 bis 15 Jahre früher (Temelkova et al. 2001). Bei den 35- bis 55-Jährigen sterben viermal mehr Männer als Frauen an einem Myokardinfarkt (Böcker et al. 2008). Dies liegt daran, dass Frauen in der Prämenopause unter dem Einfluss von kardioprotektiven Hormonen wie dem Östrogen stehen und das Risiko bei ihnen für die Entwicklung der Atherosklerose erst mit den

Veränderungen durch die Menopause, die einen Anstieg des LDL-Cholesterins und der Triglyceride sowie einen leichten Abfall des HDL-Cholesterins umfassen, steigt. Je älter die Patienten werden, desto mehr gleicht sich daher der Unterschied zwischen Männern und Frauen wieder allmählich aus.

### c. **Genetische Disposition**

Es besteht eine familiäre Prädisposition der Atherosklerose, welche nur zum Teil durch die Endothel schädigende Wirkung der genetisch bedingten Hyperlipoproteinämie und angeborenen Hypertonie erklärbar ist (Berliner et al. 1995).

### d. **Hyperlipidämie**

Unter dem Begriff Lipide werden Cholesterin, Triglyceride und Phospholipide zusammengefasst. Da die atherosklerotischen Veränderungen an der Gefäßwand mitunter durch die vermehrte Ablagerung von Lipiden begünstigt werden, sind hohe Spiegel an Cholesterin und Triglyceriden, sprich eine Hypercholesterinämie und Hypertriglyceridämie, ein Risikofaktor für diese Erkrankung.

In vielen retro- und prospektiven Studien wurde festgestellt, dass Gesamtcholesterinkonzentration in Plasma und Serum mit der Häufigkeit der koronaren Herzkrankheit und somit der Atherosklerose korreliert (Ross et al. 1976). Ab einer bestimmten Konzentration von Cholesterin im Blut kommt es zur vermehrten Ablagerung in der Gefäßwand und folgend zur Bildung von atherosklerotischen Plaques mit zunehmender Lumeneinengung des Gefäßes.

Es ist erwiesen, dass hohe Triglyceridwerte einen unabhängigen Risikofaktor für die Atherosklerose darstellen. Bisher konnte keine eindeutige Beziehung zwischen den Triglyceriden und der koronaren Herzkrankheit nachgewiesen werden. Die Auswertung wird durch die starken individuellen Schwankungen der Triglyceridspiegel von einem Tag auf den nächsten und die starke Beeinflussbarkeit durch Nahrungsaufnahme erschwert. Es konnte allerdings in Studien festgestellt werden, dass die Konzentrationen der Triglyceride invers mit den Konzentrationen von HDL-Cholesterin korrelieren.

### e. **HDL-Cholesterin**

Es konnte durch epidemiologische Studien festgestellt werden, dass ein enger Zusammenhang zwischen der Höhe des High Density Lipoprotein (HDL)-Cholesterinspiegels und dem geringeren Atheroskleroserisiko vorliegt. Es

zeigte sich eine eindeutige inverse Beziehung der HDL-Cholesterinkonzentration zum Risiko der koronaren Herzkrankheit (Pöss et al. 2010), welche eine Folgeerkrankung der Atherosklerose darstellt. Ein erniedrigter HDL-Cholesterinspiegel, d. h.  $< 40$  mg/dl gilt daher als wichtiger Risikofaktor für die Atherosklerose.

Durch eine hohe HDL-Cholesterinkonzentration können die proatherosklerotischen Effekte hoher LDL-Cholesterinkonzentrationen aufgehoben werden, was in der Framingham-Herz-Studie aus den USA und in der PROCAM-Studie aus Deutschland festgestellt werden konnte. HDL wirkt kardio- und gefäßprotektiv (Tsompanidi et al. 2010).

HDL-Cholesterin wirkt antiatherogen, da es Cholesterin aus peripheren Geweben zur Weiterverarbeitung in die Leber zurücktransportiert. Die Konzentration an Cholesterin sinkt somit im Blut und es resultiert eine verminderte Ablagerungswahrscheinlichkeit an die Gefäßwand.

### f. **LDL-Cholesterin**

Low Density Lipoproteine (LDL) wirken durch die Aktivierung von Thrombozyten, Monozyten und glatten Muskelzellen im Gefäß zytotoxisch auf das Endothel und infolgedessen proatherogen.

Die Thrombozytenaktivierung führt zu einer vermehrten Thrombozytenaggregation, einer erhöhten Stimulation durch Thrombin sowie einem gestörten Prostaglandingleichgewicht. Des Weiteren hat LDL einen Einfluss auf den Gefäßtonus durch eine Hemmung von NO.

Cholesterin wird zu 70% in den Low-density-Lipoproteinen (LDL) gespeichert. Durch mehrere Studien wurde gezeigt, dass das Risiko der koronaren Herzkrankheit hauptsächlich durch die Beziehung von LDL-Cholesterin zur koronaren Herzkrankheit bedingt ist (Law et al. 1994; Nicholls 2009).

Nach oxidativer Modifikation zu oxLDL wird es vermehrt durch Makrophagen aufgenommen und führt auf diesem Wege zu einer vermehrten Ablagerung von Lipiden in der Gefäßwand. Außerdem wirkt es chemotaktisch auf zirkulierende Monozyten und führt zu einer vermehrten Expression von VCAM1 (Vascular Cell Adhesion Molecule 1). VCAM1 ist ein integrales membranöses Zelladhäsionsprotein, welches nur nach Aktivierung von Endothelzellen exprimiert wird. Es tritt dabei an die Endothelzelloberfläche und tritt mit anderen Molekülen und Zellen wie z. B. Lymphozyten in Wechselwirkung. Dies wiederum führt zu einer vermehrten Anhäufung von Zellen aus der



Blutstrombahn an die Endothelzelle mit anschließender Entwicklung von atherosklerotischen Veränderungen.

### g. **Inhalatives Rauchen**

Rauchen, insbesondere von Zigaretten, gilt als ausgeprägter Risikofaktor für die Entstehung von Atherosklerose (Howard et al. 1994). Es hat eine thrombogene Veränderung zur Folge, d. h. es fördert die Thrombozytenaggregation und erhöht die Blutviskosität sowie den Fibrinogenspiegel. Es kommt zu einer Endotheldysfunktion durch vermehrte LDL-Oxidation und Ablagerung von Lipiden in der Gefäßwand. Durch eine reaktive Vasokonstriktion resultiert eine verminderte Transportkapazität des Blutes. Das Rauchen von einem Päckchen Zigaretten pro Tag erhöht das Risiko für atherosklerotische Manifestationen bereits um 70 – 80 %.

### h. **Arterielle Hypertonie**

Der hohe Blutdruck bei der arteriellen Hypertonie bewirkt eine hypertrophische Umwandlung des Gefäßes, das mit einer vermehrten Kollagenablagerung und Wandversteifung einhergeht (Stanek 2003). Die arterielle Hypertonie ist einer der wichtigsten Risikofaktoren der Atherosklerose und wird definiert als eine Erhöhung des systolischen Blutdruckes auf Werte  $\geq 140$  mmHg und/oder des diastolischen Blutdruckes  $\geq 90$  mmHg. Den Zusammenhang erkennt man am besten zwischen der zerebralen ischämischen Erkrankung und der Hypertonie. Eine Senkung des systolischen Blutdruckes um 10mmHg bzw. des diastolischen Blutdruckes um 5 mmHg bewirkt bereits eine Senkung des Hirninfarkttrisikos um 40% (Bronner et al. 1995).

### i. **Diabetes mellitus**

Der Diabetes mellitus ist definiert als eine chronische Störung des Glucosestoffwechsels, der eine dauerhafte Erhöhung des Blutzuckerspiegels bedingt, und führt häufig zu einer Mikro- bzw. Makroangiopathie bei den betroffenen Patienten. Er wirkt Atherosklerose fördernd, da er zu einer Endotheldysfunktion der Gefäße und zu einer verminderten Antikoagulation führt (Mulac 2005). Es liegen eine verstärkte Plättchenaggregation sowie eine erhöhte Konzentration an Fibrinogen vor. Des Weiteren bewirkt die Hyperglykämie beim Diabetes mellitus eine vermehrte Bildung von glykosilierten Molekülen und dadurch eine erleichterte Oxidation von LDL-Cholesterin. Es folgt eine vermehrte Einlagerung von LDL in die Gefäßwand,

die wiederum eine Monozytenansammlung und eine verstärkte Proliferation und Entzündung der Gefäßwandzellen bewirkt.

### j. **Körperliche Inaktivität**

Bewegungsmangel erhöht das Risiko für Atherosklerose, da es meist mit einem erniedrigten Spiegel an HDL-Cholesterin und Übergewicht sowie Insulinresistenz assoziiert ist. Körperliches Training bewirkt wiederum eine Erhöhung des HDL-Cholesterins und infolgedessen eine Erniedrigung des Atheroskleroserisikos. Auch hat Sport einen positiven Effekt auf erhöhte Blutdruckwerte.

### k. **Übergewicht**

Übergewicht stellt einen Risikofaktor für Atherosklerose dar, der oftmals über andere Risikofaktoren wie z. B. eine Erhöhung des Gesamt- und LDL-Cholesterins, eine Hypertriglyceridämie, eine Insulinresistenz etc. wirkt. Es wird vermutet, dass Übergewicht durch die vermehrte Menge an visceralem Fettgewebe durch Adipokine auch direkt atherogen wirkt (Goldberg et al. 2009).

### l. **Homocystein**

Homocystein ist ein Intermediärprodukt des Aminosäurenstoffwechsels und wird aus Methionin gebildet. Durch einen gestörten Stoffwechsel von Methionin, verursacht durch einen Enzym- bzw. Vitaminmangel (insbesondere Vitamin B- und Folsäure-Mangel), kommt es zur Hyperhomocysteinämie (Van den Berg et al. 1994). Homocystein dient als Zwischenprodukt zur Remethylierung und Transsulfatierung von Aminosäuren. Durch die Oxidation von Homocystein zu Homocystin werden Oxidationsradikale freigesetzt, die das Endothel der Arterien schädigen sowie die Entstehung von oxLDL und Proliferation der glatten Muskelzellen der Media fördern (Mayer et al. 1996). Über diesen Mechanismus wird die atherosklerotische Auswirkung eines erhöhten Homocystein-Spiegels vermutet. Letztenendes ist die Stellung des Homocysteins für die Einschätzung des Atherosklerose-Risikos noch nicht vollends geklärt.

### m. **Lipoprotein a**

Das Lipoprotein a ist ein dem LDL strukturell sehr ähnliches Lipoprotein, das sich hiervon durch die über Disulfidbrücken gebundene zweite

Eiweißkomponente Apo a unterscheidet. Das Apo a ist dem Plasminogen homolog und deshalb kommt es zu einer Inhibition des Plasminogens durch Lp(a) durch Kompetition an dessen Endothelrezeptor. Da das Lp(a) nicht fibrinolytisch wirkt, resultiert eine Störung der Gerinnung mit zunehmender Ablagerung von Fibrin und Thrombozyten.

Lp(a) ist ein genetisch durch einen autosomal dominanten Vererbungsmodus determinierter Faktor, dessen physiologische bzw. pathophysiologische Rolle noch nicht vollends geklärt ist.

In Studien (Hajjar et al. 1989, Scanu et al. 1991, Clarke et al. 2009) konnte Lipoprotein a in atherosklerotischen Plaques nachgewiesen werden. Erhöhte Serumspiegel an Lipoprotein a ( $> 30$  mg/dl) scheinen mit einem erhöhten Risiko für atherosklerotische Komplikationen einherzugehen.

Es stellt einen unabhängigen Prädiktor für atherosklerotische Ereignisse dar, der bei Menschen ab dem 60. Lebensjahr allerdings seine prädiktive Bedeutung zu verlieren scheint. Ob es allerdings selbst an der Atheroskleroseentstehung beteiligt ist, bleibt zunächst unklar. Es gibt hierzu tierexperimentelle Untersuchungen mit transgenen Watanabe-Kaninchen mit einer ausgeprägten Hyperlipidämie, welche unter Aussetzung einer erhöhten Lipoprotein a Zufuhr eine deutlich stärkere atherosklerotische Gefäßwandveränderung, z. B. der Aorta, entwickelten (Sun et al. 2002).

Es ist ungeklärt, ob Lipoprotein a einen direkten Einfluss auf die Bildung eines atherosklerotischen Plaques hat, oder zu einer Plaqueinstabilität oder Gerinnungsaktivierung bei einem atherogenen Ereignis beiträgt.

## 1.7 Extrakranielle hirnversorgende Gefäße und Intima-Media-Dicke

Ungefähr 20 % des gesamten Blutes fließt beim Menschen vom Herzen über die A. carotis communis und A. vertebralis in den Kopfbereich, um das Gehirn mit genügend Sauerstoff zu versorgen. Die A. carotis communis teilt sich im kranialen Halsbereich in die A. carotis interna und A. carotis externa. Da der Blutfluss in der A. carotis communis beidseits im Vergleich zu anderen arteriellen Gefäßen sehr stark ist, sind diese Gefäße besonders anfällig für die atherosklerotische Veränderungen. Vor allem bei Menschen mit arteriellem Hypertonus besteht eine erhöhte Gefahr für die Ausbildung von Plaques und in Folge Stenosen, die dann zu Sehstörungen oder einer transitorischen ischämischen Attacke (TIA) bzw. einem Hirninfarkt führen können.

Frühe atherosklerotische Veränderungen sind durch eine Zunahme der arteriellen Gefäßwanddicke erkennbar. Da man durch Ultraschall – Verfahren den Gefäßzustand der Halsschlagadern sehr genau darstellen kann, hat sich die sonographische Dickenbestimmung der Intima-Media, also die beiden am weitesten lumenwärts gelegenen Gefäßwandschichten der Carotiden, als Methode zur Risikobestimmung auf Atherosklerose bewährt.

In den achtziger Jahren wurden die ersten Messungen der Intima-Media-Dicke (auch Intima Media Thickness; IMT) von arteriellen Gefäßen von Pignoli et al. (1986) mit hochauflösenden Ultraschallgeräten durchgeführt, wobei sich eine gute Korrelation zu histologisch Präparaten in gemessenen Werten ergab. Viele auf diese Weise durchgeführte Untersuchungen der Halsschlagader und Studien folgten, in denen Korrelationen der IMT der A. carotis communis mit zerebrovaskulären Risikofaktoren festgestellt wurden. Demzufolge konnte eine Verdickung der IMT als ein frühes Stadium der Atherosklerose angesehen werden (Salonen et al. 1991, Bots et al. 1997, O’leary et al. 1999, Lorenz et al. 2007). Es hat sich gezeigt, dass die Dicke der Intima-Media der Halsschlagadern mit dem Risiko für das Eintreten von atherosklerotischen Erkrankungen und Ereignissen korreliert.

Auch in der vorliegenden Studie wurde die sonographische Darstellung der Intima-Media und dessen Ausmessung durchgeführt.

Die IMT-Werte sind altersabhängig. Bei jungen gesunden Probanden zwischen 20 und 30 Jahren werden Durchschnittswerte um 0,5 mm als normal angesehen. Im höheren Alter ab 60 Jahren gelten Durchschnittswerte bis 0,9 mm als normwertig (Ringleb 2009, Bauer et al. 2007).

Bei Patienten mit hohen systolischen Blutdruckwerten, hohen Blutfettwerten und Zigarettenkonsum konnten erhöhte IMT-Werte beobachtet werden. Bei Behandlung jener Patienten mit lipidsenkenden Medikamenten und Blutdruckeinstellung auf normale Werte konnte eine Regression bzw. eine Verlangsamung der Progression der IMT-Zunahme nachgewiesen werden (Polak et al. 2011).

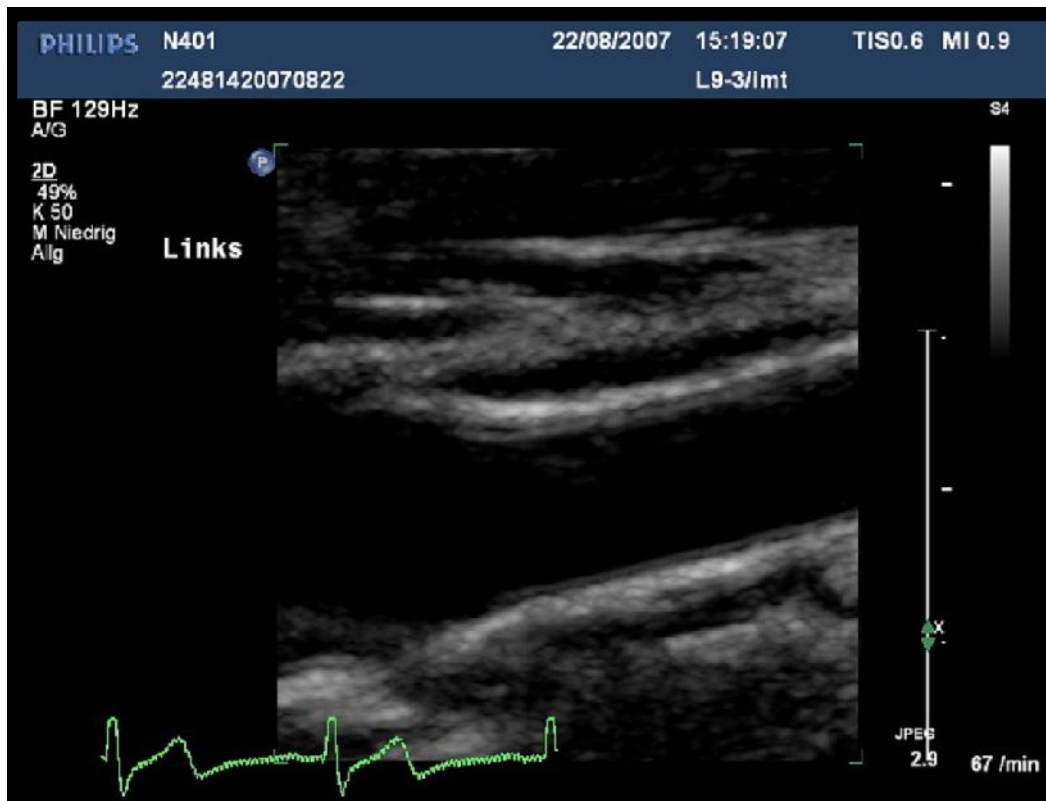
Die sonografische Darstellung der Intima-Media der A. carotis communis wird dadurch ermöglicht, dass die vom Ultraschallkopf gesendeten Schallwellen an den unterschiedlichen Grenzflächen des Gefäßes unterschiedlich stark reflektiert werden.

Für die Untersuchung der extrakraniellen arteriellen Gefäße ist ein Ultraschallkopf mit einer Frequenz 7,5 MHz geeignet, da hier das Auflösungsvermögen und die Eindringtiefe am günstigsten sind.

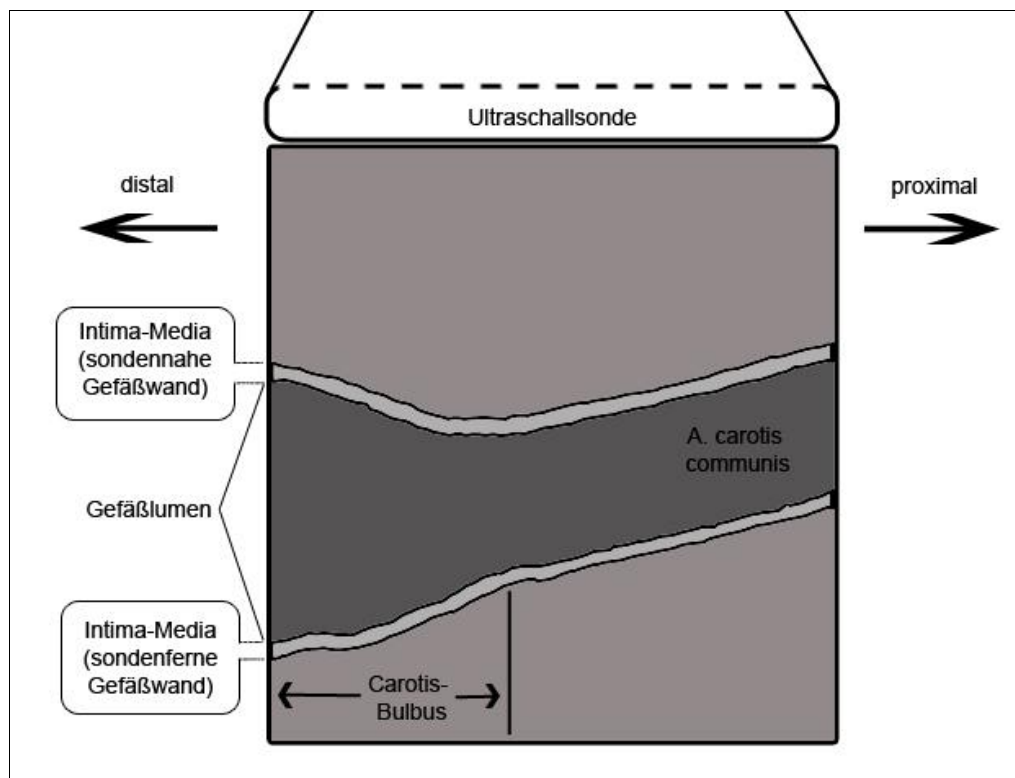
Bei der Messung der Intima-Media der A. carotis communis mittels der hochauflösenden B-Mode Sonographie erscheinen im Längsschnitt zwei echoreiche Linien, die von einer echoärmeren Zwischenschicht getrennt werden. Diese Schicht ist nicht als die Grenzlinie zwischen Intima und Media zu verstehen, sondern es handelt sich hierbei um ein physikalisches Phänomen von Impedanzsprüngen an den Grenzschichten der Arterienwand, das als Grenzzonenreflex bezeichnet wird. Mit dem Ultraschall ist es nicht möglich, die Intima von der Media abzugrenzen.

Es hat sich durch Studien gezeigt, dass die Reproduzierbarkeit der Messung am besten ist, wenn der A. carotis Abschnitt auf der sondenfernen Gefäßwandseite gemessen wird (Kaps et al. 2005, Willinek et al. 2000). Durch Aufsetzen des Ultraschallkopfes auf den Hals kommt es nämlich zu einer Komprimierung des Gefäßes und insbesondere auf der sondennahen Gefäßwandseite zu kleineren als tatsächlich vorliegenden IMT-Messwerten.

Des Weiteren wurde festgestellt, dass der für die IMT-Messung am geeignetsten Gefäßabschnitt sich ca. 1cm proximal vom Bulbusbereich befindet. Es sollte ein Abschnitt mit geraden parallelen Wandechos ohne lokale Wandverdickungen gewählt werden.



**Abb. 8** Hochauflösende Ultraschalldarstellung der A. carotis communis bis zum Bulbus reichend im Längsschnitt



**Abb. 9** Schematische Darstellung der A. carotis communis bis zum Bulbus reichend im Längsschnitt

## 1.8 Zielsetzung der Arbeit

Als Ursache für atherosklerotische Veränderungen der Gefäße spielen genetische und exogene Risikofaktoren eine wichtige Rolle.

Ergebnisse von klinischen Studien zeigten, dass Patienten mit solchen Risikofaktoren bzw. mit bereits eingetretenen vaskulären Ereignissen wie Myokardinfarkt und Hirninfarkt im Vergleich zu gesunden Menschen eine dickere Intima-Media Schicht der A. carotis communis aufwiesen. Desweiteren wurde über eine verminderte Konzentration an antioxidativen Enzymen bei Patienten mit atherosklerotischen Plaques in mehreren Studien (Blankenberg et al. 2003) berichtet.

Es geht letztlich darum zu hinterfragen, ob die (genetisch determinierte) Ausstattung an antioxidativen Mechanismen in einem Kollektiv von Probanden mit sehr geringen kardiovaskulären Risiko eine Rolle in der Entstehung der Atherosklerose spielt.

Ziel der vorliegenden Studie ist es, bei einem Kollektiv aus jungen gesunden Probanden ohne relevante kardiovaskuläre Risikofaktoren festzustellen, inwiefern eine möglichst gering gehaltene Aussetzung oxidativer Stressfaktoren mit dem Ausmaß früher atherosklerotischer Veränderungen der A. carotis communis korreliert. Außerdem stellt sich die Frage, ob das Ausmaß der Enzymaktivitäten der Antioxidantien als prädiktiver Parameter zur Einschätzung des Atheroskleroserisikos bei Menschen geeignet wäre.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Studienaufbau

Für die Studie wurde die Genehmigung der Ethik-Kommission des Universitätsklinikums der Justus-Liebig-Universität eingeholt. Das Aktenzeichen lautet 76/07. Die Studie begann im August 2007 und war im Juni 2009 abgeschlossen.

#### 2.1.1 Probandenrekrutierung

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte durch Aushänge und Flyer mit Informationen über die Studie. Nach erstmaliger telefonischer Kontaktaufnahme wurden die Probanden in die Klinik einbestellt, wo Aufklärung, Blutentnahme etc. folgten. Das Probandenkollektiv sollte folgende Eigenschaften besitzen.

##### 2.1.1.1 Einschlusskriterien

Männliche und weibliche Probanden, die

- zum Zeitpunkt der Studie und vorher Nichtraucher waren,
- keine akuten oder chronischen Erkrankungen aufwiesen,
- zum Zeitpunkt der Studie im Alter zwischen 20 und 40 Jahren waren.

##### 2.1.1.2 Ausschlusskriterien

Das Probandenkollektiv der vorliegenden Studie sollte aus gesunden Menschen bestehen, die keine Atherosklerose assoziierten Risikofaktoren aufwiesen.

Risikofaktoren werden als Variablen definiert, die in einer prospektiven Studie in statistischer Beziehung zu einer später auftretenden Krankheit stehen, ohne aber deren Ursache sein zu müssen (Hecht et al. 1988). Bei Personen, die eine Atherosklerose entwickeln, liegen bestimmte Risikofaktoren in erhöhtem Maße vor. Es wurden folgende Risikofaktoren ausgeschlossen.

- Inhalatives Rauchen, Zigarettenrauchen

Es wurden nur Probanden in die Studie aufgenommen, die bis



zum Zeitpunkt der Studie Nichtraucher waren und vorher auch nie geraucht haben.

- Hypercholesterinämie

Eine Hypercholesterinämie mit Werten  $\geq 220$  mg/dl wurde als Ausschlusskriterium festgelegt. Eine Einschränkung für Triglyceridwerte wurde nicht definiert.

- Familiäres Risiko

Um das Risiko bei den Probanden möglichst klein zu halten, wurden nur diese in die Studie aufgenommen, bei denen in der Familie keine Atherosklerose assoziierten Ereignisse wie Hirninfarkt oder Myokardinfarkt bei Verwandten 1. Grades unter 50 Jahren vorliegen.

- Arterielle Hypertonie

Als eine der stärksten Risikofaktoren für atherosklerotische Gefäßwandveränderungen wurde die arterielle Hypertonie durch Aufnahme nur von Probanden mit negativer Anamnese hierfür sowie für die Studie gemessenen Blutdruckwerten  $< 140/90$  mmHg in die Studie ausgeschlossen.

- Diabetes mellitus

Die Zuckerkrankheit ist ein unabhängiger Risikofaktor für die Atherosklerose und da die Normwerte bei nüchternen Menschen bei 100 mg/dl liegen, wurde diese Grenze als Maximalwert für den Einschluss in diese Studie festgelegt. Probanden mit höheren Werten wurden aus der Studie ausgeschlossen.

- Schwangerschaft

Durch die hormonellen Einflüsse und Veränderungen des Lebermetabolismus während der Schwangerschaft steigen die Blutfette im mütterlichen Organismus. Aus diesem Grund wurde Schwangerschaft als Ausschlusskriterium für die vorliegende Studie festgelegt.

- **LDL-Cholesterin**  
Erhöhte LDL-Cholesterin-Werte  $\geq 130$  mg/dl stellen einen Risikofaktor für die Atherosklerose dar und daher wurden Probanden mit solchen Werten nicht in die Studie aufgenommen.
- **HDL-Cholesterin**  
In Studien zeigte sich eine eindeutige inverse Beziehung der HDL-Cholesterinkonzentration zum Risiko der koronaren Herzkrankheit. Ausgeschlossen wurden alle Probanden mit HDL-Werten  $< 45$  mg/dl.
- **Sonstige akute oder chronische Erkrankungen**  
Zum Zeitpunkt der Blutentnahme sowie der Ultraschalluntersuchung müssen zur Erfüllung der Studienkriterien alle Probanden gesund sein, d. h. es dürfen keine chronischen Erkrankungen wie z. B. Schilddrüsenstoffwechselstörungen vorliegen. Des Weiteren darf der Proband auch keine akuten Erkrankungen wie z. B. einen Virusinfekt haben.
- **Medikamenteneinnahme (ausgenommen Antikonceptiva)**  
Außer oralen Antikonceptiva bei den Probandinnen sind keine weiteren Medikamente bei dieser Studie zugelassen.

### **2.1.2 Anzahl, Alter und Geschlecht der Probanden**

In diese Studie wurden insgesamt 152 gesunde Probanden eingeschlossen, die zwischen 20 und 40 Jahre alt waren. Das Geschlecht war für die vorliegende Studie nicht relevant, so dass keine Einschränkung diesbezüglich festgelegt wurde.

### **2.1.3 Aufklärung über Studie**

Die freiwilligen Probanden wurden über das Ziel und die Durchführung der Studie informiert und haben ihre Einwilligung für die Aufnahme in die Studie sowie Auswertung der anonymisierten Daten durch Unterschrift gegeben.

Nur bei Zustimmung und Erfüllung der Kriterien erfolgte die Aufnahme in die Studie (siehe Einschluss- und Ausschlusskriterien).

### 2.1.4 Probandenfragebogen

Mittels eines standardisierten Fragebogens wurden anamnestisch ermittelbare Risikofaktoren ausgeschlossen. Der Fragebogen beinhaltete Fragen zur Eigenanamnese, Familienanamnese kardiovaskulärer Erkrankungen sowie möglichen Risikofaktoren wie Diabetes mellitus, Arterielle Hypertonie, Medikamenteneinnahme und Zigarettenrauchen.

### 2.1.5 Blutdruckmessung und Erfassung anthropometrischer Daten

Der in die Klinik einbestellte Proband wurde zunächst gewogen und es wurden dessen Körpergröße, Taillen- und Hüftumfang gemessen. Es wurde weiterhin der BMI ermittelt. Die Werte wurden in einer Tabelle notiert. Die Messung des Blutdruckes erfolgte auskultatorisch unter standardisierten Bedingungen mittels der indirekten Methode nach Riva Rocci. Der Proband legte sich hierfür auf eine Untersuchungsfläche und ruhte zunächst mindestens 10 Minuten. Anschließend erfolgten eine Blutdruckmessung am linken und rechten Arm sowie danach die venöse Blutentnahme.

### 2.1.6 Blutentnahme und Weiterverarbeitung

Die Blutentnahme zur Bestimmung von Cholesterin, Triglyceriden, Glucose, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Homocystein, Lipoprotein a, Antioxidativen Enzymen (GPx, SOD, GR), oxLDL, Selen und Protein-Tyrosin-Phosphatase (PTP) erfolgte am nüchternen Probanden, d. h. mindestens 8 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme, und umfasste 2 Natrium-Heparin-Röhrchen zu je 7,5 ml, 1 Litium-Heparin-Röhrchen zu 7,5 ml, 1 Glucose-Röhrchen zu 2,5 ml und ein Serum-Röhrchen zu 7,5 ml. Um die Nüchternzeit von mindestens 8 Stunden einhalten zu können, wurde die Blutentnahme zum größten Teil morgens vorgenommen.

Folgende Monovetten der Firma Sarstedt wurden zur Blutabnahme zur Bestimmung der verschiedenen Blutwerte verwendet:

- a) S-Monovette Glucose (gelb, 2.7ml) – Bestimmung des Glucose-Spiegels
- b) S-Monovette Li-Heparin (orange, 7.5ml) – Bestimmung von Gesamt-Cholesterin, Triglyceride, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Homocystein, Lipoprotein a
- c) S-Monovette Serum (weiß, 7.5ml) - Selen, oxLDL

- d) S-Monovette Na-Heparin (grün, 7.5ml) – Bestimmung der Aktivitäten von von GPx, SOD, GR und PTP

Der Blutzucker, die Lipide, Selen sowie Lipoprotein a und Homocystein wurden im klinischen Chemielabor des Universitätsklinikum Gießens bestimmt. Hierfür wurden das Lithium-Heparin-Röhrchen und das Glucose-Röhrchen unmittelbar nach der Blutentnahme an das Labor gegeben. Für die Bestimmung des Homocysteins wurde hier der Analysator Centaur der Firma Siemens Health Care verwendet, für die weiteren Parameter der Analysator ADVIA 1800 der Firma Siemens Health Care.

Die Parameter Glutathion-Peroxidase, Glutathionreduktase, Superoxiddismutase, oxLDL wurden im Labor des angiologischen Labors der medizinischen Klinik I, Uniklinikum Gießen, bestimmt.

Nach der Blutentnahme wurden die hierfür vorgesehenen Blutproben 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend bei  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  und bei 3800 Umdrehungen/Minute 30 Minuten lang zentrifugiert.

Sofern die Laborparameter nicht sofort bestimmt werden konnten, wurde das aus den Blutproben abgehobene Plasma zu je zu je 300  $\mu\text{l}$  in Eppendorf-Behälter pipettiert und bei  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  eingefroren und zum nächstmöglichen Zeitpunkt wieder aufgetaut und verarbeitet.

### **2.1.7 Ultraschalluntersuchung der extrakraniellen hirnversorgenden Gefäße**

Zusätzlich zur Blutentnahme wurde bei jedem Probanden eine Ultraschalluntersuchung der extrakraniellen hirnversorgenden Gefäße durchgeführt. Diese bestand aus einer zweidimensionalen Darstellung, die mit dem Farbdoppler und der gepulsten Doppleruntersuchung kombiniert wurde.

## 2.2 Laborbestimmungen

### 2.2.1 Technisches Material und Chemikalien

#### Reagenzien:

Human Oxidized LDL ELISA-Kit	PromoCell GmbH, Heidelberg
Ecotainer® Aqua B. Braun	B. Braun AG, Melsungen
Kaliumdihydrogenphosphat	Merck
Dikaliumhydrogenphosphat	Merck
EDTA	Serva GmbH, Heidelberg
Natriumacid	Merck
L-Glutathione reduced (Pulver)	Sigma – Aldrich
NADPH 250mg No. 1045 (Pulver)	GERBU, Gaiberg
Glutathione Reductase (Liquid)	Sigma, From Bakers Yeast
Glutathioneperoxidase	Sigma
Pyrogallol-Lösung	
Tris-Succinat-Puffer	
Dinatriumhydrogenphosphat	Merck KGaA, Darmstadt
Natriumdihydrogenphosphat	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
TRIS	Serva GmbH, Heidelberg
Glutathion, oxidiert	Carl Roth GmbH, Karlsruhe

#### Geräte:

IKA® - Schüttler MTS2 electronic  
 Eppendorf Mixer Heidolph REAX 2000  
 Waschpuffer Magnet-Mixer IKAMAG® RET  
 Wasserbad Julabo 6A, julabo U3  
 ELISA-Gerät Tecan Sunrise

Zentrifuge Hettich ROTANTA/RP

Gefrierschrank Bosch economic -20°C

Ultrospec 3300 pro

Amersham Biosciences

UV/Visible Spectrophotometer

Eppendorf-Behälter

Pipetten 20 – 200 µl

Eppendorf Research

Messbecher 1000 ml SCHOTT DURAN®

Messzylinder DURAN® Hirschmann® 100 ml

Messzylinder DURAN® Hirschmann® 1000 ml

Eppendorf-Reagiergefäße 1,5 ml

SARSTEDT, Nürnberg

Pipettenspitzen

SARSTEDT, Nürnberg

Eppendorf-Reagiergefäß-Ständer

Schäfer, Offenburg

8-Kanal Mikrodispenser SOCOREX

Schweiz

8-Kanal Pipette TECA 25 – 200 µl

### 2.2.2 Chol, Trigl, HDL, LDL, HCY, LP a, Gluc, Selen

Im Labor der Klinischen Chemie des Universitätsklinikums Gießen wurden die genannten Parameter aus Serumproben der Probanden nach folgenden Methoden mit Hilfe von Essays der Firma Siemens Health Care bestimmt.

- Cholesterin (Cholesterinoxidase-PAP-Methode)
- Triglyceride (Glycerinphosphat-Oxidase-PAP-Methode)
- HDL-Cholesterin (Direkt-HDL-Cholesterin-Methode nach Izawa, Okada und Matsui)
- LDL- Cholesterin
- Homocystein
- Lipoprotein a
- Glucose (Hexokinase-Methode)
- Selen

Die Bestimmungen des oxidierten LDL (oxLDL) sowie der antioxidativen Enzyme Glutathion-Peroxidase 1, Glutathionreduktase und Superoxiddismutase wurden im Angiologischen Labor an der Universität Gießen und im Partnerlabor in Halle nach folgenden Methoden durchgeführt.

### 2.2.3 oxLDL

Dem Prinzip der Methode zur Bestimmung des oxidierten LDL liegt der enzymgekoppelte Immunadsorptionstest zu Grunde (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) und wurde wie vom Hersteller des kommerziell erhältlichen Kits der Firma Promokine (Heidelberg) angegeben durchgeführt.

Der ELISA-Test zeichnet sich dadurch aus, dass ein Enzym chemisch mit einem Antikörper oder Antigen gekoppelt wird. Dabei ist die unmarkierte Komponente an einen festen Träger gebunden, die in der Regel aus Vertiefungen mit Protein absorbierenden Eigenschaften in einer Mikrotiterplatte bestehen.

Beim oxLDL-ELISA sind Antikörper an der Platte gebunden und es wird die Anlagerung von Antigenen in den Blutproben getestet.

Die Bindung von Antigenen an die Platte wiederum wird dann mit Hilfe einer enzymatischen Reaktion, die ein farbloses Substrat in ein farbiges umwandelt,

dargestellt. Am Ende wird dann die Extinktion mittels eines Photometers bzw. ELISA-Lesegerätes bestimmt.

Zur Bestimmung von oxLDL wurden für diese Doktorarbeit ELISA-Kits der Firma PromoKine (Heidelberg) verwendet, welche eine mit hochselektiven Antikörpern beschichtete Mikrotiterplatte enthielten. Alle Messungen wurden doppelt durchgeführt, der Mittelwert errechnet und zur weiteren statistischen Auswertung verwendet.

Zur Vorbereitung wurde eine verdünnte Waschpufferlösung aus Waschpufferkonzentrat und bidestilliertem Wasser im Verhältnis 1:10 gemischt. Die mitgelieferten Standards und Kontrollen wurden mit 500 µl aqua bidest. versetzt und zum Lösen 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Das Konjugat wurde im Verhältnis 1:101 in der Waschpufferlösung verdünnt. Es erfolgte außerdem die 1:10 Verdünnung der auf Raumtemperatur gebrachten Serumproben mit Probenverdünnungspuffer.

Die Mikrotiterplatte wurde aus dem Kit genommen und fünfmal mit je 250 µl verdünnter Waschpufferlösung gewaschen und anschließend durch Ausklopfen auf Papiertüchern von Waschpufferresten befreit.

Es wurden dann die Standards, Kontrollen und Blutproben zu je 100 µl in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte pipettiert und dann bei Raumtemperatur für 4 Stunden auf dem Schüttler inkubiert.

Nach der Inkubationszeit wurde der Inhalt der Wells verworfen und die Platte erneut fünfmal mit je 250 µl verdünntem Waschpuffer gewaschen. Im nächsten Schritt wurde je 100 µl verdünntes Konjugat in alle Wells pipettiert und die Platte für 1 Stunde bei Raumtemperatur auf dem Schüttler inkubiert. Nach anschließenden erneuten 5 Waschvorgängen wie oben beschrieben wurden 100 µl Substrat in alle Wells pipettiert und nochmals für 15 Minuten bei Raumtemperatur, allerdings diesmal im Dunkeln, inkubiert.

Nach Ablauf der 15 Minuten wurde die Reaktion mit 50 µl der Stopplösung angehalten und die Extinktion bei 450 nm mittels eines Photometers gemessen.



## 2.2.4 Antioxidative Enzyme

### 2.2.4.1 Zelluläre Glutathion-Peroxidase 1

Die Aktivitätsbestimmung der selenabhängigen, zellulären sowie plasmatischen Glutathion-Peroxidase erfolgte nach der von Lawrence und Burk 1976 entwickelten Methode.

Die Glutathion-Peroxidase katalysiert die Reduktion von Hydrogenperoxid zu zwei Molekülen Wasser. Das hieran beteiligte reduzierte Glutathion (GSH) wird zu Glutathiondisulfid (GSSG) oxidiert. Mittels der Glutathionreduktase wird GSSG unter Verbrauch von NADPH erneut zu GSH reduziert.

Die Extinktionsabnahme von NADPH, die proportional zur zellulären Glutathion-Peroxidase-Aktivität ist, wird bei einer Wellenlänge von 340 nm über einen Zeitraum von zwei Minuten gemessen.

Für die Bestimmung der GPx wurde zunächst eine 10 ml Reaktionslösung aus GSH, NADPH und 1,0 U/mL GR in 10 ml Kaliumphosphatpuffer hergestellt.

Des Weiteren wurde 283,6 µl 30-prozentiges Wasserstoffperoxid in einem 5 ml-Kolben gegeben und mit Aqua bidest. bis zur Marke aufgefüllt.

250 µl dieser Lösung wurden weiter in einen 25 ml Kolben gegeben und dann wieder mit Aqua bidest. bis zur Marke aufgefüllt.

Nach Zugabe von 50 µl der Plasma-Probe zu 900 µl der Reaktionslösung wurde die Reaktion durch Zugabe von 50 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gestartet und die Extinktion bei 340 nm über einen Zeitraum von 2 Minuten gemessen.

Für den Blindwert wurde statt der Probe 50 µl des Kaliumphosphatpuffers eingesetzt. Die Berechnung der GPx-Aktivität aus den Extinktionswerten erfolgte mit Hilfe der folgenden Formel:

$$\text{U/mg Protein} = \frac{\Delta E/\text{min} \cdot V \cdot VF}{\epsilon \cdot v \cdot d \cdot \text{mg Protein}}$$

$\Delta E/\text{min}$  = Extinktionsdifferenz pro Minute

$V$  = Gesamtvolumen in Küvette

$VF$  = Verdünnungsfaktor der Probe

$v$  = Probenvolumen

$\epsilon$  = spezifischer Extinktionskoeffizient von NADPH bei 340 nm = 6, 22

$d$  = Schichtdicker der Küvette

### 2.2.4.2 Glutathionreduktase

Die Bestimmung der Glutathionreduktase erfolgte nach der von Cohen und Duvel im Jahr 1988 entwickelten Methode. Bei der Glutathionreduktase handelt es sich um eine Disulfidreduktase, die die Disulfidform des Glutathions (GSSG) zur Sulfhydrylform (GSH) unter Verbrauch von NADPH reduziert. Die Abnahme von NADPH verläuft proportional zur GR-Aktivität und kann aufgrund der unterschiedlichen Absorptionsmaxima von NADPH und NADP spektralphotometrisch bestimmt werden. Die Messung der Absorptionsabnahme wurde photometrisch bei 340 nm über den Zeitraum von 1 Minute gemessen. Hierfür wurden 50 µl verdünntes Plasma zu 850 µl GSSG-Lösung in eine Halbmikroküvette zusammengegeben und gut vermischt. Durch Zugabe von 100 µl NADPH wurde die Reaktion gestartet. Bei der Messung des Blindwertes wurde statt der Plasmaprobe der Verdünnungspuffer TRIS verwendet.

Die Enzymaktivität wurde mit Hilfe der folgenden Gleichung berechnet.

$$\text{mU/mg Protein} = \frac{\Delta E/\text{min} \cdot V \cdot VF \cdot 1000}{\epsilon \cdot v \cdot d \cdot \text{Protein [mg/ml]}}$$

$\Delta E$	= Extinktion der Probe
V	= Gesamtvolumen
VF	= Verdünnungsfaktor
$\epsilon$	= Extinktionskoeffizient
d	= Schichtdicke der Küvette
v	= Probenvolumen

Hierbei entspricht 1 U dem Umsatz von 1 µmol/NADPH/min.

### 2.2.4.3 Superoxiddismutase

Die Superoxiddismutase (SOD) wurde nach der Methode von Marklund und Marklund (1974) bestimmt.

In leicht alkalischen Lösungen wird Polyphenol-Pyrogallol durch Sauerstoff bzw. Sauerstoffradikale zum gelblich gefärbten Purpurgallin oxidiert. Dieser Prozess wird durch die aktive SOD gehemmt.

Nach der Methode von Marklund und Marklund wird die 50-prozentige Inhibierung der Autooxidation des Pyrogallols durch die SOD-Aktivität als 1 Einheit der SOD definiert.

Zur Bestimmung der SOD-Aktivität wurden 25 µl der Plasmaprobe in 700 µl Kaliumphosphatpuffer in Halbmikroküvetten pipettiert und durch mehrmaliges Aufziehen und Ausstoßen gemischt. Es folgte eine 10-minütige Inkubationszeit bei 22°C. Durch Zugabe von 25 µl Pyrogallollösung wurde die Reaktion gestartet. Es wurden die Extinktionen bei 420 nm sofort und nach 3 Minuten gemessen. Zur Bestimmung des Blindwertes wurde statt der Blutprobe Aqua dest. verwendet.

Die SOD-Volumenaktivität wurde mit Hilfe der Extinktionswerte durch folgende Formel berechnet:

$$U/ml = \frac{(\Delta E/min \text{ BW} - \Delta E/min \text{ Probe}) \cdot V_g \cdot V}{\left[ \frac{\Delta E/min \text{ BW}}{2} \right] \cdot v}$$

- V = Verdünnung des Plasmas
- V<sub>g</sub> = Gesamtvolumen in Küvette
- v = Probenvolumen
- ΔE = Extinktion
- BW = Blindwert
- ΔE/min = (E<sub>2</sub> – E<sub>1</sub>) / 3

### 2.2.5 Weitere Blutwerte

#### 2.2.5.1 Protein

Der Proteingehalt der Blutproben wurde nach der von Bradford im Jahre 1976 entwickelten Methode bestimmt. Das Reaktionsprinzip besteht darin, dass der blaue Farbstoff Coomassie Brilliantblau zwei Farben aufweisen kann. Die braun-violette Farbe wird durch die Bindung an Proteine in einen blauen Farbton überführt. Der Protein-Farbstoff-Komplex hat einen hohen Extinktionskoeffizienten, der für die hohe Sensibilität der Proteinbestimmung nach dieser Methode verantwortlich ist. Durch die Proteinbindung verschiebt sich ebenfalls das Absorptionsmaximum von 465 nm nach 595 nm.

Zur Herstellung des Bradford-Reagenz wurden 100 mg Brilliant Blue G der Firma Sigma in 50 ml 96-prozentigem Ethanol gelöst und mit 100 ml 85-prozentiger Phosphorsäure versetzt. Dann wurde mit destilliertem Wasser auf 600 ml aufgefüllt. Anschließend wurde die Lösung filtriert und mit 100 ml Glycerol versetzt. Danach wurde die Mischung mit H<sub>2</sub>O bidest auf ein Endvolumen von 1 Liter aufgefüllt.

Der Proteingehalt der Proben wurde anhand einer Eichgeraden ermittelt. Für die hierfür notwendige Eichreihe wurde eine Standardlösung (0,2%) mit BSA (bovine serum albumin) angesetzt. Daraus wurden dann Verdünnungen mit den Proteinkonzentrationen 0, 10, 25, 50, 75, 100, 150 und 200 µl/ml hergestellt.

50 µl der Probe wurden dann auf eine 96-well Mikrotiterplatte pipettiert und anschließend mit 200 µl Bradfordreagenz versetzt. Nach einer 10-minütigen Inkubation auf dem Schüttler wurden die Proben bei 595 nm mit dem Photospektrometer gemessen. Mit Hilfe der aus der Eichgeraden erstellten Gleichung konnte die Proteinkonzentration durch Einsetzen der gemessenen Extinktionswerte berechnet werden.

Alle ermittelten Daten wurden in einer Excel-Tabelle erfasst und am Ende der Studie analysiert.

#### 2.2.5.2 Protein-Tyrosin-Phosphatase

Die Aktivitätsbestimmung der Protein-Tyrosin-Phosphatase (PTP) erfolgte nach der von Zhu und Goldstein 2002 entwickelten Methode, die auf der Dephosphorylierung von p-Nitrophenylphosphat zu p-Nitrophenol basiert. Hierbei wird die Reaktion durch die PTP katalysiert.

Im alkalischen Milieu reagiert p-Nitrophenol dann zum Nitrophenolat-Anion, dass eine intensive gelbe Färbung aufweist und so photometrisch gemessen werden kann.

Zunächst wurde ein Messpuffer für PTP neutral aus 2-Ethansulfonsäure, Natriumchlorid, Ethylendiamintetraessigsäure und Phenylmethylsulfonylfluorid hergestellt. Hierfür wurden HEPES, NaCl und EDTA in 800 ml Aqua bidest. gelöst. PMSF wurde in 1 ml Isopropanol gelöst und dazugegeben. Anschließend wurde der pH auf 7,2 eingestellt und die Lösung bis zur 1 Liter Marke aufgefüllt.

In 10 ml dieses Messpuffers wurde dann p-Nitrophenylphosphat im Becherglas gelöst. Hierbei ist zu beachten, dass die entstehende Lösung lichtempfindlich ist und das Becherglas daher mit Alufolie oder ähnliches zu umwickeln ist. 10 µl der Plasmaprobe wurden mit 240 µl Messpuffer in einer Halbmikroküvette gemischt und für 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Durch Zugabe von 250 µl Messpuffer, der zusätzlich 20 mM p-Nitrophenylphosphat enthielt, wurde die Reaktion gestartet. Nach 5 Minuten wurde die Reaktion durch Hinzufügen von 500 µl 2,0 M NaOH gestoppt und die Extinktion bei 405 nm gemessen.

### 2.2.5.3 Hämoglobin

Die Hämoglobin-Messung basiert auf der Oxidation des zweiwertigen Eisens im Hämoglobin zu Methämoglobin mit dreiwertigem Eisen durch das Oxidationsmittel Kaliumhexacyanoferrat. Das Fe-III-Methämoglobin wird dann mit Cyanidionen zu Hb-Fe-III-CN versetzt, welches eine bläuliche Färbung aufweist und photometrisch gemessen werden kann.

### 2.3 Methode Ultraschalluntersuchung

Hierbei legt sich der Proband mit dem Rücken auf eine Untersuchungsfläche und ruht zunächst 10 Minuten. Gleichzeitig werden dem Probanden drei Elektroden zur simultanen EKG-Ableitung auf die Brustwand angelegt.

Dem Probanden wird ein Kissen unter den Nacken gelegt, damit sein Kopf überstreckt liegt und somit die Ultraschallbedingungen verbessert werden.

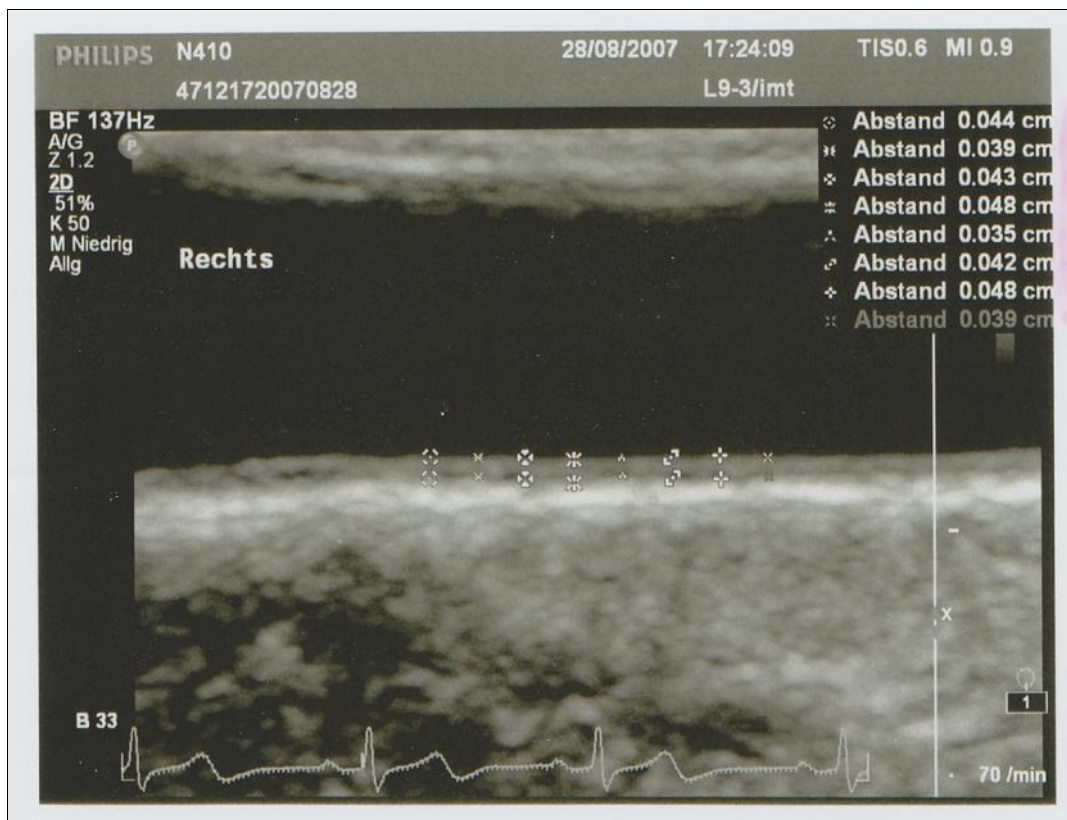
Bei der Ultraschalluntersuchung, bei der ein Multifrequenzschallkopf mit einer Frequenz von 5 bis 9 Mhz mit einer Frequenz von 9 Mhz des Ultraschallsystems IU22, Firma Philipps Healthcare verwendet wird, wird zunächst die gesamte A. carotis communis im Querschnitt von der Abzweigung aus der A. subclavia bis zum Beginn der Bifurkation in A. carotis interna und externa betrachtet. Dann wird der Schallkopf in den Längsschnitt des Gefäßes geschwenkt. Die distalen Abschnitte der Arteria carotis communis beidseits werden so im Longitudinalschnitt eingestellt. Es erfolgt in dieser Position die Messung der Flussgeschwindigkeiten mittels der gepulsten Doppleruntersuchung in den Gefäßabschnitten A. carotis communis, A. carotis interna, A. carotis externa sowie in der A. vertebralis. Anschließend wird die A. carotis communis proximal der Bifurkationsstelle im Längsschnitt eingestellt und zur besseren Darstellung der Intima-Media eventuell auf dem Bildschirm vergrößert. Bei optimaler Darstellung des Intima-Media-Komplexes ein cm proximal des Bulbus werden jeweils eine Einstellung von anterior, lateral und posterior aufgenommen und abgespeichert. Des Weiteren werden die systolischen und diastolischen Strömungsgeschwindigkeiten der A. carotis communis, A. carotis externa, A. carotis interna und der A. vertebralis beidseits registriert und abgespeichert.

Da sich die Intima-Media-Dicke durch die systolische Dehnung der Arterie aufgrund der Komprimierung ändert, wurde zur Erzielung eines vergleichbaren Ergebnis im Probandenkollektiv die Intima-Media-Dicke jeweils EKG-getriggert stets zum Zeitpunkt des höchsten Ausschlages der R-Zacke gemessen.

Die Ausmessung der Intima-Media-Dicke der A. carotis erfolgte folgendermaßen. Es wurde ein proximal des Bulbus gelegener Abschnitt mit einer Länge von 1 cm EKG-getriggert zum Zeitpunkt der R-Zacke markiert. Es erfolgten hierbei drei Anlotungen von anterior, lateral und posterior-lateral. Dieser Abschnitt wurde dann jeweils in 10 gleich lange Abschnitte, also 1 mm, eingeteilt und an jedem dieser Punkte wurde die Intima-Media-Dicke manuell ausgemessen.

Danach wurde der Durchschnittswert beidseits bestimmt, daraus der Mittelwert errechnet und notiert. Alle Messungen wurden für die einzelnen Probanden jeweils in einer Sitzung bestimmt.

Unsere Arbeitsgruppe hat in vorherigen Studien (Grebe et al. 2010) gezeigt, dass diese Methode gut reproduzierbare Ergebnisse der IMT mit einer niedrigen Intraobserver-Variabilität von 2,2% hervorbringt.



**Abb. 10 Hochauflöstes Ultraschallbild:** ACC rechts im Längsschnitt mit manueller Ausmessung der IMT (Messwerte rechts oben im Bild)

## 2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe für Medizinische Statistik der Universität Gießen.

Die ermittelten Werte in dieser Studie werden als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Zur Untersuchung des Einflusses der unterschiedlichen Parameter auf die IMT wird die multiple lineare Regressionsanalyse verwendet. Hierbei stellt die IMT die abhängige Variable, während die restlichen Parameter als unabhängige Variablen betrachtet werden.

Da kein normal verteiltes Kollektiv vorliegt, wird zur Beurteilung des Zusammenhangsmaßes für nominalskalierte Variablen der Korrelationskoeffizient nach Spearman berechnet.

Die Werte des Signifikanzniveaus werden für  $p < 0,05$  als signifikant (\*) und für  $p < 0,01$  als hochsignifikant (\*\*) angesehen.

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe des Programms SAS (Statistical Analysis System) durchgeführt.



## 3. Ergebnisse

### 3.1 Klinische Daten

Von den 226 gescreenten Teilnehmern erfüllten 152 die Kriterien der Studie. Dieses Kollektiv bestand aus gesunden Probanden, von denen 92 (60,5%) weiblichen Geschlechts und 60 (39,5%) männlichen Geschlechts waren. Das Durchschnittsalter aller Probanden lag zwischen 26 und 27 Jahren (26,08 Jahre), die durchschnittliche Körpergröße betrug  $173,8 \pm 8,88$  cm, das durchschnittliche Gewicht lag bei  $68,42 \pm 12,25$  kg und für den BMI war der Durchschnittswert  $22,53 \text{ kg/m}^2$  ( $\pm 2,87 \text{ kg/m}^2$ ). Der durchschnittlich gemessene systolische Blutdruck lag bei  $111,01 \pm 10,89$  mmHg und der diastolische Blutdruck lag bei  $71,09 \pm 7,55$  mmHg.

Die 152 Probanden der Studie wiesen folgende demografische Daten auf.

	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Alter (Jahre)	26,08	3,5	20	38
Gewicht (kg)	68,42	12,25	48	115
Größe (cm)	173,84	8,88	156	198
Body-Mass-Index ( $\text{kg/m}^2$ )	22,53	2,87	17,2	35,9
Hüftumfang (cm)	96,11	7,59	84,0	131,0
Taillenumfang (cm)	75,67	9,07	60,0	113,0
Blutdruck syst. (mmHg)	111,01	10,89	80,0	140,0
Blutdruck diast. (mmHg)	71,09	7,55	60,0	100,0

**Tab. 2 Anthropometrische Daten des Probandenkollektivs**

.

### 3.2 Klinische Chemie

Die in der Klinischen Chemie des Universitätsklinikum Gießens bestimmten Labordaten ergaben folgende Ergebnisse.

	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Cholesterin (mg/dl)	178,01	23,15	117,0	220,0
Triglyceride (mg/dl)	87,32	41,08	33,0	259,0
LDL-Cholesterin (mg/dl)	95,05	19,49	45,0	130,0
HDL-Cholesterin (mg/dl)	68,38	14,33	45,0	108,0
Lipoprotein a (mg/dl)	7,73	5,62	5,0	29,0
Glucose (mg/dl)	82,32	9,77	58,0	100,0
Homocystein (µmol/l)	10,90	2,73	5,7	20,6
Quotient LDL/HDL	1,46	0,45	0,5	3,1

**Tab. 3 Laborchemische Befunde des Probandenkollektivs**

### 3.3 Aktivität der antioxidativen Enzyme

	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Glutathion-Peroxidase in Erythrozyten (U/g Hb)	12,99	2,71	7,485	21,20
Glutathionreduktase (U/g Hb)	1,33	0,33	0,57	2,36
Superoxiddismutase (U/ml)	266,82	56,73	177,93	386,78
Protein-Tyrosin-Phosphatase (U/ml)	4,86	0,76	3,15	7,14

**Tab. 4 Aktivitäten der antioxidativen Enzyme**

### 3.4 Intima-Media-Dicke

Die Intima-Media-Dicke der ACC der Probanden lag im Durchschnitt bei  $0,450 \pm 0,059$  mm.

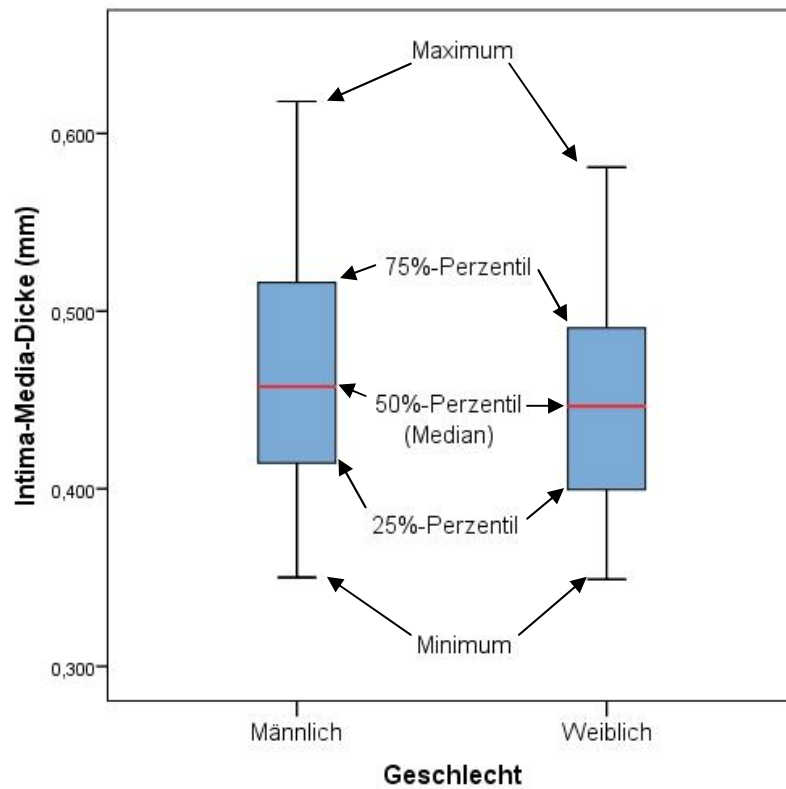
Einem Minimalwert von 0,32 mm steht ein Maximalwert von 0,67 mm gegenüber. Vergleicht man die IMT-Werte der rechten und linken A. carotis communis im gesamten Kollektiv, so zeigen die linksseitigen Messungen ( $0,445 \pm 0,063$  mm) etwas niedrigere Werte auf als auf der rechten Seite ( $0,461 \pm 0,064$  mm).

Die durchschnittliche Dicke der Intima-Media ist bei den männlichen Probanden mit  $0,463 \pm 0,065$  mm etwas stärker als bei den weiblichen Probanden ( $0,447 \pm 0,053$  mm).

Aus der Messung der Intima-Media der A. carotis communis ergaben sich folgende Werte.

	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
IMT gesamt (mm)	0,450	0,059	0,349	0,618
IMT männlich (mm)	0,463	0,065	0,350	0,618
IMT weiblich (mm)	0,447	0,053	0,349	0,581
IMT rechts (mm)	0,461	0,064	0,335	0,670
IMT links (mm)	0,445	0,063	0,317	0,626

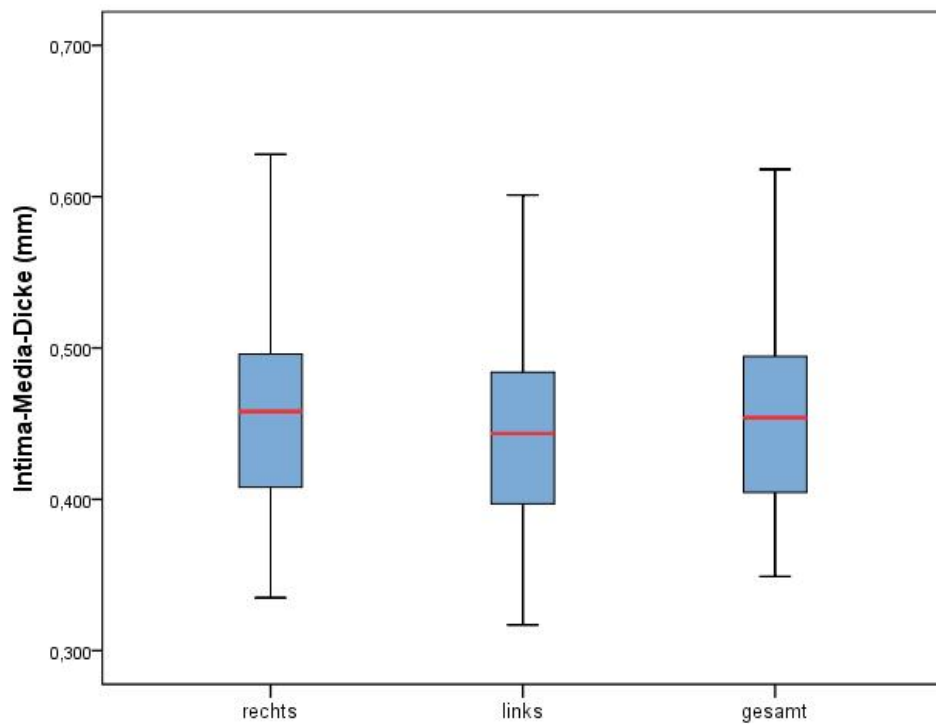
**Tab. 5 Intima-Media-Dicke (IMT) - Vergleich im Probandenkollektiv nach Geschlecht und rechter sowie linker A. carotis communis**



**Abb. 11 Boxplot Intima-Media-Dicke (IMT) -Messwerte (männlich/ weiblich)**

	Männlich	Weiblich
Maximum	0,618	0,581
75%-Perzentil	0,518	0,491
Median	0,458	0,447
25%-Perzentil	0,414	0,399
Minimum	0,350	0,349
Anzahl (n)	60	92

**Tab. 6 Intima-Media-Dicke (IMT) in mm nach Geschlecht**



**Abb. 12 Boxplot Intima-Media-Dicke (IMT)-Messwerte (linke/ rechte ACC und Gesamt-IMT)**

	Rechts	Links	Gesamt
Maximum	0,632	0,604	0,618
75%-Perzentil	0,496	0,485	0,495
Median	0,458	0,443	0,454
25%-Perzentil	0,408	0,397	0,404
Minimum	0,334	0,317	0,349
Anzahl (n)	152	152	152

**Tab. 7 Intima-Media-Dicke (IMT) (in mm) der linken und rechten ACC sowie Gesamt-IMT**

**3.5 ox-LDL, Selen, Protein**

	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Oxidiertes LDL (ng/ml)	261,52	489,37	4,5	4166,0
Selen (µg/l)	86,95	12,82	47,0	120,0
Protein im Plasma (mg/ml)	86,84	10,51	52,81	112,52

**Tab. 8 oxLDL, Selen, Protein**

### **3.6 Korrelative Betrachtungen**

Es wurden die Zusammenhänge zwischen den genannten Parametern und der Intima-Media-Dicke bestimmt. Als adäquater Test zur Beschreibung des Zusammenhangs wurde für die stetigen Einflussgrößen die Berechnung des Spearman-Rang-Korrelationskoeffizienten gewählt.

Von den möglichen unabhängigen Variablen konnte ein bivariater Zusammenhang mit IMT für die PTP festgestellt werden.

	Korrelationskoeffizient	p-Wert
Alter	-0,006	0,932
Größe	0,187	0,021
Gewicht	0,196	0,016
BMI	0,136	0,095
Hüftumfang	0,146	0,073
Taillenumfang	0,080	0,331
Cholesterin gesamt	0,035	0,665
Triglyceride	0,047	0,566
HDL-Cholesterin	-0,039	0,633
LDL-Cholesterin	0,036	0,659
Lipoprotein a	0,127	0,118
Glucose	0,004	0,959
Homocystein	0,002	0,981
oxLDL	-0,114	0,161
GPx in Vollblut	-0,088	0,282
GPx in Plasma	0,059	0,475
GPx in Erythrozyten	-0,092	0,257
Protein in Plasma	0,053	0,518
SOD	0,098	0,228
PTP	-0,184	0,023
GR	-0,104	0,203
Selen	-0,033	0,690

**Tab. 9 Univariater Zusammenhang der Zielgröße Intima-Media-Dicke (IMT) der A. carotisc communis (ACC) und verschiedenen anthropometrischen sowie laborchemischen Parametern des Probandenkollektivs (n= 152);** Abkürzungen: BMI - Body Mass Index, oxLDL - oxidiertes LDL, GPx - Glutathionperoxidase, SOD - Superoxiddismutase, PTP - Protein Tyrosin Phosphatase, GR - Glutathionreduktase, p-Wert -Signifikanzwert



### 3.6.1 Anthropometrische Daten und IMT

#### **Alter und IMT**

Bei den 152 Probanden ergab sich kein signifikanter Zusammenhang ( $r = -0,007$ ;  $p = 0,932$ ;  $n = 152$ ) zwischen dem Alter und der Intima-Media Dicke. Die Verteilung der IMT im Bezug auf das Alter erscheint altersunabhängig in dem vorliegendem Probandenkollektiv.

#### **Größe und IMT**

Die Körpergröße der Probanden zeigte einen schwachen signifikanten Zusammenhang ( $r = 0,187$ ;  $p = 0,021$ ;  $n = 152$ ) mit der IMT der ACC.

#### **Gewicht und IMT**

Auch bei der Korrelation des Gewichts und der IMT konnte ein schwacher signifikanter Zusammenhang ( $r = 0,196$ ;  $p = 0,016$ ;  $n = 152$ ) festgestellt werden.

#### **BMI und IMT**

Es zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Body-Mass-Index und der IMT ( $r = 0,136$ ;  $p = 0,094$ ;  $n = 152$ ).

#### **Hüftumfang/ Taillenumfang und IMT**

Die Korrelation des Hüftumfangs ( $r = 0,146$ ;  $p = 0,073$ ;  $n = 152$ ) und des Taillenumfangs ( $r = 0,079$ ;  $p = 0,331$ ;  $n = 152$ ) ergab ebenfalls keinen signifikanten Zusammenhang.

### **3.6.2 Klinische Chemie und IMT**

#### **Cholesterin und IMT**

Die Korrelation des Gesamt-Cholesterins mit der IMT ergab keinen signifikanten Zusammenhang ( $r = 0,35$ ;  $p = 0,566$ ;  $n=152$ ).

#### **Triglyceride und IMT**

Der Vergleich der Triglycerid-Werte mit den IMT-Werten ergab keinen signifikanten Zusammenhang ( $r = 0,047$ ;  $p = 0,566$ ;  $n = 152$ ).

#### **HDL bzw. LDL und IMT**

Ebenfalls keinen signifikanten Zusammenhang ergab die Korrelation der HDL-Cholesterin-Werte ( $r = -0,039$ ;  $p = 0,633$ ;  $n = 152$ ) bzw. LDL-Cholesterin-Werte ( $r = 0,036$ ;  $p = 0,659$ ;  $n = 152$ ) mit der IMT der A. carotis communis.

#### **Homocystein und IMT**

Kein signifikanter Zusammenhang konnte festgestellt werden zwischen den Homocystein-Werten und der IMT ( $r = 0,002$ ;  $p = 0,981$ ;  $n = 152$ ).

#### **Glucose und IMT**

Die Korrelation der Nüchtern-Glucose-Werte mit der IMT ergab ebenfalls keinen signifikanten Zusammenhang ( $r = 0,004$ ;  $p = 0,959$ ;  $n = 152$ ).

#### **Selen und IMT**

Die Korrelation des Selen mit der IMT wiesen keine signifikanten Zusammenhänge ( $r = -0,033$ ;  $p = 0,690$ ;  $n = 152$ ) auf.

#### **oxLDL und IMT**

Betrachtet man das gesamte Probandenkollektiv, so konnte bei der Datenauswertung kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem oxidiertem LDL und der IMT ( $r = -0,114$ ;  $p = 0,161$ ;  $n = 152$ ) festgestellt werden.

Die Korrelation des männlichen Anteils des Kollektivs mit der IMT zeigte jedoch einen signifikanten Zusammenhang ( $r = -0,264$ ;  $p = 0,041$ ;  $n = 60$ ). Beim weiblichen Kollektiv konnten keine Zusammenhänge festgestellt werden.

#### **Lipoprotein a (Lp a) und IMT**

Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Lp a-Konzentration und der IMT festgestellt werden ( $r = 0,127$ ;  $p = 0,118$ ;  $n = 152$ ).

#### **3.6.3 Antioxidantien und IMT**

Es zeigte sich in dieser Studie, dass die Aktivität der antioxidativen Enzyme Glutathion-Peroxidase 1, Glutathionreduktase sowie Superoxiddismutase keine Korrelation mit der Dicke der Intima-Media der A. carotis aufwiesen.

Folgende Korrelationkoeffizienten und Signifikanzwerte ergab die Analyse nach Spearman:

Glutathion-Peroxidase 1 im Vollblut und IMT ( $r = -0,088$ ;  $p = 0,283$ ;  $n = 152$ )

Glutathion-Peroxidase 1 im Plasma und IMT ( $r = 0,059$ ;  $p = 0,475$ ;  $n = 152$ )

Glutathion-Peroxidase 1 in Erythrozyten und IMT ( $r = -0,092$ ;  $p = 0,257$ ;  $n = 152$ )

Glutathionreduktase und IMT ( $r = -0,104$ ;  $p = 0,204$ ;  $n = 152$ )

Superoxiddismutase und IMT ( $r = 0,98$ ;  $p = 0,228$ ;  $n = 152$ )

#### **3.6.4 PTP und IMT**

Die Datenanalyse zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Enzymaktivität der Protein-Tyrosin-Phosphatase und der IMT ( $r = -0,184$ ;  $p = 0,023$ ;  $n = 152$ ).

Besonders beim weiblichen Anteil des Kollektivs konnte eine signifikante (negative) Beziehung ( $r = -0,318$ ;  $p = 0,002$ ;  $n = 92$ ) zwischen der PTP und der IMT festgestellt werden.

## 4. Diskussion

In Anlehnung an frühere Studien, in denen ein signifikanter Einfluss von oxidativem Stress auf die Entstehung atherosklerotischer Veränderungen beobachtet werden konnte, wurde in der vorliegenden Arbeit der Zusammenhang oxidativer Stressaussetzung mit dem Ausmaß früher atherosklerotischer Veränderungen an der A. carotis communis bei jungen, gesunden Personen untersucht.

Es warf sich zunächst die Frage auf, was man genau unter oxidativem Stress versteht und in welcher Form er sich messen lässt.

Oxidativer Stress wird als eine Schädigung der Zellen infolge eines Ungleichgewichtes an freien hochreaktiven Sauerstoffspezies und der Entgiftungsleistung des Organismus mit Hilfe von antioxidativen Systemen verstanden. Da sich in der Vergangenheit eine Reihe wissenschaftlicher Studien bereits mit diesem Gebiet befasst hat und das Glutathion-Redoxsystem zu einem der wichtigsten antioxidativen Mechanismen des menschlichen Organismus zählt, wurden für die vorliegende Arbeit zur Quantifizierung der antioxidativen Abwehr die zytosolischen, antioxidativen Aktivitäten der Enzyme GPx-1 und GR sowie SOD gewählt. Frühere Untersuchungen zeigten ein inverses Verhalten der Aktivität der GPx und der GR zum Ausmaß von atherosklerotischen Gefäßveränderungen.

Vor diesem Hintergrund sollte die vorliegende Studie daher die Evidenz für die GPx und die GR als potente Risikomarker für kardiovaskuläre Ereignisse bei asymptomatischen Personen prüfen. Zugleich sollte der Einfluss weiterer Parameter wie die Konzentration des oxLDL, des Homocysteins, der Lipide, des Lipoprotein a, des Selens, der PTP-1B und die anthropometrischen Daten Alter, Geschlecht, BMI, Gewicht, Größe sowie die Vitalparameter Blutdruck und Puls auf diese Wirkung untersucht werden.

Zur Quantifizierung der frühen arteriosklerotischen Veränderungen bei dem Probandenkollektiv dieser Studie wurde die Intima-Media-Dicke (IMT) der A. carotis communis gewählt. Salonen et al. (1991) fanden einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren Hyperlipidämie, Rauchen, Arterieller Hypertonus etc. und der Zunahme der IMT der A. carotis communis. Weitere große Studien kamen zu ähnlichen Ergebnissen (Chambless et al. 1997; Hatanishi et al. 2004). O'Leary et al. (1999) fanden eine signifikante Korrelation zwischen der IMT und der Inzidenz von Herz- und

Hirnfarkten, so dass sie sogar den Vorschlag machten, die IMT in die Liste der vaskulären Risikofaktoren aufzunehmen.

Die Messung der Intima-Media-Dicke (IMT) ist daher eine etablierte Methode zur Früherkennung von atherosklerotischen Gefäßveränderungen (Aminbakhsh et al. 1999, Howard et al. 1993, Burke et al. 1995).

Die Intima-Media bezeichnet die dem Gefäßlumen zugewandten zwei innersten Schichten der arteriellen Gefäßwand. Ausgemessen wurde jeweils die IMT der dem Schallkopf abgewandten Gefäßwandseite, um falsch niedrige IMT-Werte durch Andruck des Schallkopfes auf die Arterie zu vermeiden.

In der vorliegenden Studie lag die durchschnittliche IMT der A. carotis communis bei  $0,45 \pm 0,059$  mm. Dieses Ergebnis ist im Vergleich zu den Ergebnissen von bereits vorliegenden Studien als normwertig einzuordnen (Depairon et al. 2000, Lim et al. 2007). In der ARIC-Studie wurde gezeigt, dass bei Männern eine durchschnittlich höhere IMT vorliegt als bei Frauen (Howard et al. 1993). Weiterhin konnte hier eine Zunahme der IMT mit jedem Jahr um  $0,01\text{mm/Jahr}$  bei Frauen und  $0,014\text{mm/Jahr}$  bei Männern festgestellt werden. Andere Studien lieferten vergleichbare Ergebnisse (O'Leary et al. 1999, Howard et al. 1993).

Auch in der vorliegenden Studie wiesen Männer mit einer IMT von  $0,463 \pm 0,065$  mm im Vergleich zu Frauen mit einer IMT von  $0,447 \pm 0,053$  mm etwas höhere Werte auf. Dies liegt möglicherweise daran, dass die untersuchten Männer ( $27,18 \pm 3,96$  Jahre) in der vorliegenden Studie im Schnitt zwei Jahre älter waren als die Frauen ( $25,36 \pm 2,99$  Jahre). Dieses würde mit den Ergebnissen der ARIC-Studie übereinstimmen, in der wie erwähnt eine Zunahme der IMT um ca.  $0,01\text{mm/Jahr}$  beobachtet wurde und die Männer der vorliegenden Studie somit mit zwei Jahren Altersvorsprung somit auch ca.  $0,02\text{mm}$  höhere IMT aufwiesen. Depairon et al. (2000) untersuchten IMT der A. carotis communis bei gesunden Probanden im Alter von 20 bis 60 Jahren und konnten in ihren Ergebnissen im Gegensatz dazu keinen IMT-Unterschied zwischen den Geschlechtern nachweisen.

### Antioxidative Enzymaktivität und IMT

Gemäß den Ergebnissen dieser Studie ergeben sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den Aktivitäten der GPx, GR und SOD und der IMT der A. carotis communis bei dem vorliegenden Probandenkollektiv. Es konnte kein inverses Verhalten der Enzymaktivitäten zu der IMT gemessen werden.

Wie erklärt sich dieses Ergebnis? Im Gegensatz zu anderen Studien, in denen Patienten mit bereits vorliegender Atherosklerose oder kardiovaskulären Risikofaktoren

untersucht wurden, wurden für diese Studie gesunde, junge Probanden ohne kardiovaskuläre Risikofaktoren rekrutiert. Die fehlende Korrelation könnte dadurch erklärt werden, dass die Aktivitäten der antioxidativen Enzyme GPx, GR und SOD bis zum Erreichen eines bestimmten Lebensalters in so großem Maße vor atherosklerotischen Gefäßveränderungen an der A. carotis communis schützen, dass keine oder zumindest nur minimale, sonographisch nicht ermittelbare Gefäßveränderungen entstehen und sich somit auch keine altersabhängigen Unterschiede für die IMT messen lassen. Zum anderen dürfte die Probandengruppe einem sehr geringen oxidativen Stress ausgesetzt sein, so dass die oxidative Defens nur eine untergeordnete Rolle spielen dürfte.

Die gemessene Aktivität der GPx-1 in Erythrozyten betrug  $12,299 \pm 2,71$  U/g Hb. Betrachtet man verschiedene Ergebnisse anderer Studien, schwanken die Werte je nach Studie stark. Die GPx-Aktivitäten weisen in europäischen und amerikanischen Studien im Durchschnitt niedrigere Werte (Jablonska E. et al. 2009, Bastaki M. et al. 2006) auf als in vergleichbaren Studien in Asien und Südamerika (Moradi M. et al. 2009). In europäischen Studien lassen sich Plasma-Selen-Werte von  $85,19 \pm 14,85$  µg/l messen, während in Südamerika und Asien im Durchschnitt höhere Werte messen ließen (Carmona-Fonseca 2010). Der Plasma-Selen-Gehalt ist daher eine mögliche Erklärung für die im Vergleich zu anderen Studien relativ niedrige GPx-1-Aktivität der vorliegenden Studie. Hier wurden Plasma-Selenwerte von  $86,95 \pm 12,82$  µg/l gemessen. Bastaki et al. (2006) untersuchten den Zusammenhang zwischen genetischen Polymorphismen und den Aktivitäten der antioxidativen Enzyme SOD und GPx-1. Sie kamen zu dem Schluss, dass diese von vielen verschiedenen Faktoren wie Geschlecht, Ethnie, Umwelteinflüsse und Genetik abhängen. Weiterhin scheinen die Messmethoden der antioxidativen Enzymaktivitäten erheblichen Einfluss auf die gemessenen Werte zu haben.

Blankenberg et al. stellten eine fortschreitende Aktivitätsminderung der Glutathion-Peroxidase 1 mit zunehmendem Alter bei an koronarer Herzerkrankung leidenden Personen ab 55 fest (Blankenberg et al. 2003). Weitere Studien kamen zu vergleichbaren Ergebnissen (He 2009, Maurya et al. 2010).

Da besonders die Aktivität der Glutathion-Peroxidase 1 Selen-abhängig ist, können diese Beobachtungen folgendermaßen erklärt werden. Mit steigendem Alter steigt die Belastung des Organismus durch vermehrten Anfall von reaktiven Sauerstoffradikalen durch Alterungs- und Umbauprozesse, was eine vermehrte Leistung des antioxidativen

Enzymsystems erforderlich macht. Weiterhin nimmt mit dem Alter auch durch die häufigere Mangelernährung mit unzureichender Zufuhr von Spurenelementen der Selengehalt im Blut ab (Poredos 2004). Aufgrund der verminderten Zufuhr und den vermehrten Verbrauch an Selen mit zunehmendem Alter kommt es anschließend zu einer Erschöpfung und Aktivitätsminderung des Selen-abhängigen antioxidativen Systems.

Um möglicherweise eine signifikante Korrelation zwischen den antioxidativen Enzymaktivitäten und den frühen atherosklerotischen Veränderungen der A. carotis communis zu finden, wären weitere Untersuchungen mit gesunden Probanden höheren Alters sinnvoll. Es wäre denkbar, dass eine Aktivitätsminderung der antioxidativen Enzyme erst in Kombination mit weiteren Faktoren, welche ab einem bestimmten Alter > 40 Jahren auftreten, messbare frühe atherosklerotische Veränderungen der IMT bewirken.

Es bleibt zu prüfen, bei welchem Patientenkollektiv es sinnvoll ist, die Aktivitäten der antioxidativen Enzyme als prädiktiven Faktor für kardiovaskuläre Ereignisse einzusetzen. Gemäß der Daten der vorliegenden Studie ist die Aktivität der GPx, GR und SOD als prognostischer Parameter zur Vorhersage von kardialen und zerebralen Ereignissen in der Klinik zumindest bei gesunden, jungen Personen nicht sinnvoll einsetzbar.

### oxLDL und IMT

Ein weiterer Parameter, der in Verbindung mit oxidativem Stress gebracht wird und ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung von atherosklerotischen Gefäßveränderungen darstellt, ist das oxidierte LDL, oxLDL. Nach den Ergebnissen von Studien besteht ein Zusammenhang zwischen oxLDL und der klinisch manifesten koronaren Herzkrankheit bzw. atherosklerotischen Veränderungen der A. carotis communis (Hulthe et al. 2002, Vasankari et. al 2001, Metso et al. 2004). Mit steigendem Alter kommt es auch zu erhöhten Plasma-oxLDL-Konzentrationen im Blut.

Die Daten der vorliegenden Studie zeigten keine signifikante Korrelation zwischen den oxLDL-Werten und der gemessenen IMT-Werte.

Metso et al. (2004) fanden in Ihrer Studie, in der die Beziehung zwischen dem oxLDL und der IMT bei gesunden Männern mittleren Alters untersucht wurde, heraus, dass bei ihrem Kollektiv ein signifikanter Zusammenhang zwischen diesen Parametern bestand. In anderen Studien (Van Tits et al. 2006; Hulthe et al. 2001) wiederum konnte keine Beziehung zwischen oxLDL und IMT festgestellt werden. Signorelli et al. (2001)

stellten fest, dass die oxLDL-Konzentration im Plasma bei Patienten mit asymptomatischer carotider Atherosklerose erhöht war.

Unser Probandenkollektiv bestand aus jungen, gesunden Menschen zwischen 20 und 40 Jahren. Möglicherweise ist die fehlende Korrelation darauf zurückzuführen, dass erhöhte oxLDL-Spiegel im Blut erst im höheren Alter eine atherosklerotisch fördernde Wirkung haben.

Weinbrenner et al. (2006) haben gezeigt, dass erhöhte oxLDL-Konzentrationen mit einer erhöhten antioxidativen Enzymaktivität der Glutathion-Peroxidasen als Antwort auf den erhöhten oxidativen Stress einhergehen. Es ist denkbar, dass bei dem Probandenkollektiv der vorliegenden Studie die Glutathion-Peroxidase-Aktivität ausreichend hoch war, um einer durch oxLDL-verursachten atherosklerotischen Gefäßwandveränderung der A. carotis communis ausreichend entgegenzuwirken.

Die Zunahme der atherosklerotischen Veränderungen mit steigendem Alter ist unter anderem darauf zurückzuführen, dass im höheren Alter die Aktivität der antioxidativen Enzyme, insbesondere der Glutathion-Peroxidase, abnimmt (Maurya et al. 2010, Espinoza et al. 2008), dass der schädlichen Wirkung des oxLDL nicht mehr Stand gehalten werden kann und es somit über die Bildung von Schaumzellen in der arteriellen Gefäßwand zu atherosklerotischen Ablagerungen kommt.

### Lipide und IMT

Die Lipide umfassen das Gesamtcholesterin, die Triglyceride, das LDL-Cholesterin und das HDL-Cholesterin. In der Vergangenheit hatte sich gezeigt, dass eine Hyperlipidämie oder auch reine Hypercholesterinämie und Hypertriglyceridämie häufig mit der Atherosklerose einhergingen.

In der vorliegenden Studie wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen den einzelnen Lipidwerten und der IMT gefunden. Auch hier lässt sich die fehlende Korrelation durch das gesunde Probandenkollektiv mit ausreichender Aktivität des antioxidativen Enzymsystems und normwertigem Lipidprofil erklären. Studien haben gezeigt, dass eine niedrige Aktivität der antioxidativen Enzyme die Entstehung der Atherosklerose mehr begünstigen als eine alleinige Hyperlipidämie (Zawadzka-Bartczak E. 2005). Die fehlende Korrelation könnte durch das hochselektive Probandengut erklärt sein, in dem zu geringe Differenzen untereinander vorliegen, um diese signifikant feststellen zu können. Aufgrund der nur sehr geringen Schwankungsbreite der interindividuellen Lipidwerte (HDL-, LDL-, Gesamt-Cholesterin) wäre eine erheblich größere Probandenzahl notwendig, um diese geringen Einflüsse



aufzeigen zu können. Die Probandenzahl könnte in unserer Studie daher zu klein gewesen sein.

### Homocystein und IMT

Bots et al. (1997) stellten in ihren Studien fest, dass erhöhte Homocystein-Spiegel im Blut mit einem erhöhten Arterioskleroserisiko einhergehen. Weiterhin konnten Hinweise dafür gefunden werden, dass die gefäßschädigende Wirkung des Homocysteins mit einer reduzierten Aktivität der GPx-1 assoziiert sind (Lubos et al. 2007).

In der vorliegenden Studie fand sich keine signifikante Korrelation zwischen den Homocysteinwerten im Plasma und der IMT der A. carotis communis. Die Untersuchungen von anderen Studien zu dieser Fragestellung kamen zu vergleichbaren Ergebnissen und fanden keinen Zusammenhang zwischen einer Hyperhomocysteinämie und der antioxidativen Enzymaktivität (Huerta et al. 2004, Durga et al. 2004). Insgesamt sprechen die Daten daher dagegen, dass ein direkter, messbarer Zusammenhang zwischen den Homocysteinspiegeln und der IMT bei gesunden Probanden vorliegt. Weiterhin konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Homocystein und der Aktivität der antioxidativen Enzyme festgestellt werden.

Homocystein erscheint somit zur Einschätzung des kardiovaskulären Risikos als ungeeignet. Hohe Spiegel werden zwar bei Patienten mit atherosklerotischen Gefäßveränderungen und bei Patienten mit Mangel an Vitaminen und Folsäure beobachtet. Der genaue Zusammenhang ist bisher allerdings noch nicht geklärt. Es sind daher weitere Untersuchungen diesbezüglich notwendig, um die Rolle des Homocysteins als möglicher direkter Risikofaktor für Atherosklerose zu verstehen.

### Selen und IMT

Selenmangel wird als Risikofaktor für eine Reihe von Erkrankungen diskutiert. Die Ernährungswissenschaftlerin M. Rayman (2012) berichtete über einen Zusammenhang einer unzureichenden Selenzufuhr mit Schilddrüsenerkrankungen, Infertilität, kardiovaskulären Erkrankungen, Arthritis, Krebserkrankungen und Viruserkrankungen. Wir untersuchten daher in unserer Studie den Zusammenhang zwischen der Plasma-Selen-Konzentration und der IMT. Es fand sich hier allerdings keine signifikante Korrelation. Weiterhin zeigte sich auch kein signifikanter Zusammenhang zwischen Selen und der Aktivität des Selen-abhängigen Enzym GPx-1. Diese Ergebnisse erscheinen widersprüchlich zu den bisher in experimentellen Untersuchungen gewonnenen Erkenntnissen (Matsuda et al. 1997; Rückgauer et al. 2001), da sich in diesen gezeigt hat, dass ein hoher Selenspiegel im Blut mit einer vermehrten Glutathionperoxidase-Aktivität einhergeht als niedrige Selenspiegel.

Jablonska et al. (2009) stellten fest, dass ein Polymorphismus für die Glutathion-Peroxidase 1 existiert. Dieser führe unter anderem dazu, dass die Aktivität der Glutathion-Peroxidase 1 bei verschiedenen Menschen in unterschiedlichem Maße mit derselben Selenkonzentration einhergeht. Die fehlende Korrelation ist daher möglicherweise auf die genetischen Variationen zurückzuführen.

Für die regelrechte Funktion des Selen-abhängigen antioxidativen Redoxsystems im menschlichen Organismus ist eine ausreichende Menge an Selen unabdingbar. Jüngste Erkenntnisse zeigten aber, dass eine zu hohe Selenkonzentration, beispielsweise durch Selen-Einnahme als Nahrungsergänzungsmittel bei Menschen mit einem normalen Selenhaushalt, das Risiko für bestimmte Erkrankungen wie z. B. Diabetes mellitus erhöhen kann (Rayman 2012). Menschen mit erniedrigtem Selenhaushalt würden daher von einer Selensubstitution profitieren, während bei Menschen mit bereits regelrechtem Selenhaushalt hierauf verzichtet werden sollte.

### Protein-Tyrosin-Phosphatase 1B (PTP-1B) und IMT

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten ein signifikant ( $p=0,023$ ) inverses Verhalten der IMT zur PTP-1B-Aktivität, d. h. höhere PTP-1B-Aktivitäten gingen mit niedrigen IMT-Werten einher. Insgesamt erscheint dieser Zusammenhang widersprüchlich zu den bereits in der Forschung gemachten Erkenntnissen.

Es hat sich in experimentellen Untersuchungen gezeigt, dass die Protein-Tyrosin-Phosphatase 1B eine entscheidende Rolle in der Signaltransduktion des Insulins spielt (Elchebly et al. 1999, Klamann et al. 2000). Eine Inhibition dieses Enzyms führt den

Ergebnissen zufolge zu einer erhöhten Insulinsensitivität und somit zu einer Verbesserung der erhöhten Blutzuckerspiegel bei Diabetikern.

In Untersuchungen der vergangenen Jahre wurde festgestellt, dass eine übermäßige Selenkonzentration und damit einhergehender hoher Glutathion-Peroxidase-1-Aktivität die Entwicklung einer diabetischen Stoffwechsellage mit Gewichtszunahme zur Folge haben können (Müller 2008, Rayman 2012). In Tierexperimenten konnte eine vermehrte Aktivität der PTP-1B bei diabetischen Ratten mit übermäßiger Selensubstitution und erhöhter GPx-1-Aktivität festgestellt werden.

Weiterhin führt die Inhibition der PTP-1B zu einer Verbesserung der endothelialen Funktion der Gefäße (Shah et al. 2006, Trop et al. 2008). Eine diabetische Stoffwechsellage führt langfristig zu atherosklerotischen Gefäßveränderungen.

In Zusammenschau der Ergebnisse ist der in unseren Daten zu beobachtende inverse Zusammenhang zwischen der PTP-1B-Aktivität und der IMT nicht durch die bisher gewonnenen Erkenntnisse vollends zu erklären und sollte in Zukunft zu weiterführenden Untersuchungen Anlass geben.

## 5. Zusammenfassung

Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems stellen heutzutage die häufigste Todesursache in Industrieländern dar. Hierbei wird der Atherosklerose mit ihren Folgeerkrankungen wie Hirninfarkt oder Myokardinfarkt eine wichtige Rolle zugeschrieben. Neben den klassischen Risikofaktoren hierfür wird in den vergangenen Jahren immer häufiger auch der oxidative Stress hiermit in Verbindung gebracht. Studien und Experimente haben gezeigt, dass Patienten mit bekannten atherosklerotischen Gefäßwandveränderungen eine erniedrigte Aktivität der antioxidativen Enzyme GPx-1, GR und SOD aufweisen. Bislang ist allerdings nicht gänzlich geklärt, inwieweit sich oxidativer Stress auf die arteriellen Gefäße auswirken kann. Das Ziel dieser Arbeit ist es daher, die Evidenz der antioxidativen Enzymaktivitäten der GPx-1, GR und SOD als potentielle prädiktive Risikomarker bei einem jungen, gesunden Probandenkollektiv zu prüfen. Weiterhin gilt das Interesse dieser Arbeit, weitere Parameter wie der PTP-1B und des Selens, für die ein Zusammenhang mit der Aktivität des antioxidativen Defenssystem des menschlichen Organismus beschrieben ist, auf diese Wirkung zu überprüfen.

Zur Quantifizierung der frühen atherosklerotischen Gefäßwandveränderungen wurde die IMT der A. carotis communis gewählt, für die in früheren Studien ein signifikanter Zusammenhang mit dem Risiko für Atherosklerose gezeigt werden konnte.

Für die Aktivitäten der GPx-1, GR und SOD und für Selen fanden sich keine signifikanten Korrelationen mit der IMT. Es konnte allerdings ein signifikanter inverser Zusammenhang für die PTP-1B-Aktivität mit der IMT festgestellt werden. Bisher wurde der PTP-1B eine wichtige Rolle in der Entstehung des Diabetes mellitus zugesprochen, was widersprüchlich zu unseren Ergebnissen erscheint. Es sind daher weitere Untersuchungen der PTP-1B notwendig.

Die Aktivitäten der GPx-1, GR und SOD sind zur prädiktiven Risikoeinschätzung für kardiovaskuläre Erkrankung bei jungen gesunden Menschen ohne kardiovaskuläre Risikofaktoren unseren Ergebnissen zufolge nicht geeignet.

## 6. Summary

Diseases of the cardiovascular system nowadays represent the commonest cause of death in industrialized countries. Atherosclerosis causing stroke and myocardial infarction plays an important role at this. Besides the classic risk factors of atherosclerosis oxidative stress has been discussed as a further risk factor in the past few years. Research has shown a decreased activity of the antioxidative enzymes GPx-1, GR and SOD in patients suffering from atherosclerosis. However, until today the influence of oxidative stress on the arterial wall has not been completely understood. For this reason, the aim of this study is to examine whether the activities of GPx, GR and SOD are potential risk markers for atherosclerosis in a group of young, healthy men and women without traditional risk factors for atherosclerosis. Furthermore, selenium and the activity of PTP-1B, which are associated with the GPx, are investigated. To quantitate early atherosclerotic changes we chose intima-media-thickness (CCA-IMT) of the carotid artery.

Univariate analysis showed no significant correlation between CCA-IMT and activities of GPx-1, GR, SOD and selenium. An inverse significant correlation between PTP-1B-activity and CCA-IMT ( $p=0,002$ ) could be detected. Yet, increasing evidence support an important role of PTP-1B in insulin action and diabetes, which seems to be contradictory to our results and demands more investigations. The activities of GPx-1, GR and SOD are not suitable for predictive risk estimation of cardiovascular diseases in young, healthy men and women.

## 7. Anhang

### 7.1 Abkürzungsverzeichnis

**CCA-IMT:** Intima-Media-Thickness of the common carotid artery, Intima-Media-Dicke der A. carotis communis

**EDRF:** endothelial derived factor

**FMD:** flussmedierte Vasodilatation

**GPx:** Glutathion-Peroxidase

**GR:** Glutathion-Reduktase

**GSH:** Glutathion

**GSSG:** oxidierte Form des Glutathions

**HDL:** high density lipoprotein

**IMT:** Intima-Media-Thickness, Intima-Media-Dicke

**LDL:** low density lipoprotein

**Lp(a):** Lipoprotein a

**NADP:** oxidierte Form des Nicotinamidadenindinucleodidphosphat

**NADPH:** reduzierte Form des Nicotinamidadenindinucleodidphosphat

**Mn-SOD:** Mangan-abhängige Superoxidismutase

**NO:** Stickstoffmonoxid

**oxLDL:** oxidized low density lipoprotein

**PTP:** Protein-Tyrosin-Phosphatase

**PTP-1B:** Protein-Tyrosin-Phosphatase 1B

**ROS:** reactive oxygen species

**SOD:** Superoxiddismutase

**VCAM1:** vascular cell adhesion molecule 1

## 7.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Todesursachen 2008 in Deutschland .....	3
Abb. 2	Entstehung eines atherosklerotischen Plaques.....	8
Abb. 3	Ursachen und Entstehungsorte von ROS .....	10
Abb. 4	Oxidativer Stress und Atherosklerose .....	12
Abb. 5	Oxidativer Stress und Antioxidative Abwehr.....	13
Abb. 6	Glutathion-Redoxsystem .....	15
Abb. 7	Superoxiddismutase und Glutathion-Redoxsystem.....	16
Abb. 8	Hochauflösende Ultraschalldarstellung der ACC im Längsschnitt .....	26
Abb. 9	Schematische Darstellung der ACC im Längsschnitt .....	26
Abb. 10	Hochaufgelöstes Ultraschallbild: ACC mit Ausmessung .....	43
Abb. 11	Boxplot IMT-Messwerte (männlich/weiblich) .....	49
Abb. 12	Boxplot IMT-Messwerte (linke / rechte ACC und Gesamt-IMT).....	48
Abb. 13	Probanden-Anamnesebogen .....	89

## 7.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Selenhaltige Glutathion-Peroxidasen .....	14
Tab. 2	Anthropometrische Daten des Probandenkollektivs .....	45
Tab. 3	Laborchemische Befunde des Probandenkollektivs .....	46
Tab. 4	Aktivitäten der antioxidativen Enzyme .....	46
Tab. 5	Intima-Media (IMT) - Vergleich im Probandenkollektiv nach Geschlecht und rechter sowie linker A. carotis communis.....	47
Tab. 6	IMT (in mm) nach Geschlecht .....	48
Tab. 7	IMT (in mm) der linken und rechten ACC sowie Gesamt-IMT .....	49
Tab. 8	Befunde für oxLDL, Selen, Protein .....	50
Tab. 9	Univariater Zusammenhang der Zielgröße IMT der ACC und verschiedenen anthropometrischen sowie laborchemischen Parametern.....	52

## 7.4 Erhobene Daten der Studie

### Verwendete Abkürzungen in der Tabelle mit Einheiten

Geschl. = Geschlecht M=0, W=1  
 Größe in cm  
 Gewicht in kg  
 BMI = Body-Mass-Index in  $\text{kg/m}^2$   
 Hueftumf = Hüftumfang in cm  
 Taille = Taillenumfang in cm  
 RR\_syst = Systolischer Blutdruckwert  
 RR\_diast = Diastolischer Blutdruckwert  
 Chol = Nüchtern-Cholesterinwert in mg/dl  
 Trigly = Nüchtern-Triglyceride in mg/dl  
 HDL = HDL-Cholesterin (nüchtern) in mg/dl  
 LDL = LDL-Cholesterin (nüchtern) in mg/dl  
 LPa = Lipoprotein a in mg/dl  
 Glucose = Nüchtern-Glucose in mg/dl  
 Homocyst = Homocystein in  $\mu\text{mol/l}$   
 LDL/HDL = Quotient aus LDL-Chol. und HDL-Chol.  
 oxLDL = oxidiertes LDL in ng/ml  
 GPx\_VB in U/(g Hb)  
 GPx\_Plas in U/(g Protein)  
 GPx\_Ery = Glutathion-Peroxidase in Erythrozyten in U/(g Hb)  
 Prot\_Plas = Protein im Plasma in mg/ml  
 SOD = Enzymaktivität der Superoxiddismutase in U/ml  
 PTP = Enzymaktivität der Protein-Tyrosin-Phosphatase in U/ml  
 GR = Glutathionreduktase in U/(g Hb)  
 IMT = Intima-Media-Thickness in mm  
 Selen in  $\mu\text{g/l}$

Prob_Nr	Alter	Geschl	Größe	Gewicht	BMI	Hueftumf	Taille
N 400	25	0	171	74	25,3	103,5	80
N 401	25	1	165	63	23,1	104	77,3
N 402	29	0	182	68	20,5	97	83
N 403	26	1	178	75	23,7	94	71
N 405	24	1	180	69	21,3	103	72
N 406	25	0	179	68	21,2	92	80
N 407	25	0	176	72,5	23,4	102,5	83
N 408	31	0	180	86	26,5	104	84,5
N 410	27	1	165	75	27,5	108	88,5
N 411	26	0	183	79	23,6	97	82
N 412	27	0	183	78	23,3	107	82,5
N 414	25	1	165	58	21,3	100	66,5
N 416	25	1	164	67	24,9	101,5	81,5



Prob_Nr	Alter	Geschl	Große	Gewicht	BMI	Hueftumf	Taille
N 419	26	0	187	115	32,9	121	104
N 420	25	1	166	51	18,5	93	67,5
N 421	28	0	178	72	22,7	92	79
N 423	26	1	167	62	22,2	97	72,5
N 424	26	0	181	79	24,1	96	74
N 425	25	1	170	64	22,1	92	73
N 426	29	1	175	85	27,8	110	85,5
N 428	24	1	175	65	21,2	100	69,5
N 430	32	0	176	72	23,2	94	82,5
N 431	27	1	161	51	19,7	88	68
N 432	28	1	167	100	35,9	131	113
N 433	29	1	165	60	22,0	103	69
N 434	26	1	179	61	19,0	95	71,5
N 435	25	1	172	57	19,3	96	65
N 438	29	0	185	85	24,8	107	87,5
N 439	29	0	185	88	25,7	116	99
N 440	21	1	163	60	22,6	93	74
N 441	25	1	165	52	19,1	93	68
N 442	25	1	160	48	18,8	85	64
N 450	30	1	165	53	19,5	93	66
N 452	27	1	172	60	20,3	97	71
N 453	26	1	162	57	21,7	93	73
N 454	26	0	182	82	24,8	107	92
N 455	26	1	178	59	18,6	96	66
N 458	24	1	168	70	24,8	97	73
N 459	25	1	165	68	25,0	98	78
N 460	24	1	166	58	21,0	93	68
N 461	25	0	174	77	25,4	98	89
N 462	29	0	180	76	23,5	96	81
N 463	30	1	170	65	22,5	100	75
N 464	25	1	176	73	24,0	106	81
N 465	25	1	176	68	22,0	102	73
N 468	26	0	198	91	23,2	102	82
N 469	38	0	182	67	20,2	90	73
N 470	25	1	162	50	19,1	85	65
N 471	25	1	164	57	21,2	94	69
N 474	26	0	190	81	22,4	105	80
N 475	28	0	184	79	23,3	95	87
N 476	26	1	167	64	22,9	97	71
N 477	24	1	160	53	20,7	90	69
N 478	29	0	185	87	25,4	109	84
N 479	25	1	175	54	17,6	86	69
N 482	26	1	163	60	22,6	95	73
N 483	24	1	166	54	19,6	86	63
N 488	24	1	166	56	20,3	89	67
N 489	30	1	173	58	19,4	88	68
N 491	26	0	187	80	22,9	103	79
N 492	23	0	191	83	22,8	98	80

Prob_Nr	Alter	Geschl	Groeße	Gewicht	BMI	Hueftumf	Taille
N 497	31	0	183	70	20,9	93	80
N 498	26	0	184	84	24,8	95	87
N 499	26	0	182	92	27,8	111	92
N 500	26	0	174	70	23,1	95	76
N 501	29	0	178	78	24,6	89	79
N 504	27	0	177	64	20,4	91	76
N 506	28	0	182	69	20,8	98	74
N 507	29	1	158	54	21,6	91	70
N 508	22	0	173	63	21,0	89	73
N 509	27	0	179	60	18,7	87	74
N 510	29	0	183	63	18,8	91	82
N 513	25	1	167	70	25,1	98	73
N 514	27	1	169	70	24,5	92	82
N 517	21	0	187	72	20,6	90	71,5
N 518	21	1	176	60	19,4	90	67
N 519	20	1	176	59	19,0	91	70
N 522	30	0	173	79	26,4	103	88
N 524	21	0	185	72	21,0	96	76
N 525	20	1	176	73	23,6	98	74
N 526	31	1	170	81	28,0	107	77
N 528	27	0	189	89	24,9	102	87
N 529	22	0	178	66	20,8	91	75
N 530	29	1	163	79	29,7	122	91
N 531	28	0	190	88	24,4	102	83
N 532	21	1	174	62	20,5	96	71
N 533	26	1	165	53	19,5	87	65
N 534	22	0	180	71	21,9	91	72
N 535	26	0	180	95	29,3	93	103
N 536	25	1	171	59	20,2	94	66
N 537	28	1	168	61	21,6	96	74
N 541	28	1	164	64	23,8	90	69
N 542	33	1	166	55	20,0	90	64
N 543	29	1	156	49	20,1	88	61
N 545	26	1	160	53	20,7	85	65
N 547	30	1	178	73	23,0	99	76
N 548	28	1	160	63	24,6	91	71
N 551	27	0	182	72	21,7	91	79
N 552	23	0	186	73	21,1	92	78
N 553	23	0	187	75	21,4	97	73
N 555	26	1	165	70	25,7	108	82
N 556	25	1	163	64	24,1	87	61
N 557	30	0	195	104	27,4	115	84
N 558	24	1	172	64	21,6	95	67
N 559	28	0	193	87	23,4	98	82
N 562	37	0	190	96	26,6	110	96
N 563	22	0	186	80	23,1	95	79
N 566	20	1	163	59	22,2	96	71
N 567	20	1	170	65	22,5	90	73

Prob_Nr	Alter	Geschl	Groesse	Gewicht	BMI	Hueftumf	Taille
N 568	20	1	179	55	17,2	87	65
N 569	25	1	170	58	20,1	93	81
N 570	35	1	162	54	20,6	90	73
N 571	32	0	174	70	23,1	93	76
N 573	27	1	172	61	20,6	90	69
N 575	28	0	170	70	24,2	93	80
N 577	29	1	169	63	22,1	98	74
N 578	24	0	186	78	22,5	97	79
N 579	37	0	174	78	25,8	98	94
N 580	26	0	193	88	23,6	103	84
N 581	24	1	178	85	26,8	103	84
N 582	25	1	163	55	20,7	89	65
N 583	24	1	169	63	22,1	96	74
N 584	25	1	166	48	17,4	84	69
N 585	32	1	183	66	19,7	88	60
N 586	23	1	173	67	22,4	101	75
N 591	32	0	170	68	23,5	88	76
N 595	25	1	170	63	21,8	90	70
N 597	27	1	173	65	21,7	90	65
N 598	26	0	180	77	23,8	98	82
N 599	23	1	167	61	21,9	93	70
N 900	25	0	182	87	26,3	95	91
N 901	27	1	170	58	20,1	90	66
N 902	26	1	160	55	21,5	92	66
N 903	22	1	163	54	20,3	88	64
N 905	22	1	168	53	18,8	85	63
N 906	23	0	177	77	24,6	94	82
N 907	23	1	164	52	19,3	90	67
N 908	28	0	171	61	20,9	88	77
N 909	24	1	171	59	20,2	92	67
N 910	22	1	180	65	20,1	97	68
N 911	22	1	175	70	22,9	99	72
N 914	23	1	163	55	20,7	93	63
N 915	25	1	170	54	18,7	90	68
N 916	38	0	172	75	25,4	92	86
N 918	21	1	165	58	21,3	96	72
N 920	22	1	174	64	21,1	93	69
N 921	20	0	185	78	22,8	97	81,5
N 922	28	1	173	70	23,4	92	72
N 923	27	1	177	72	23,0	100	74
N 924	24	1	167	59	21,2	95	70
N 925	21	1	164	76	28,3	100	83
N 926	21	1	170	64	22,1	99	73

Prob_Nr	RR_syst	RR_diast	Chol	Trigly	HDL	LDL	Lpa
N 400	115	70	143	38	57	61	< 10
N 401	110	70	189	131	75	87	< 10

Prob_Nr	RR_syst	RR_diast	Chol	Trigly	HDL	LDL	Lpa
N 402	110	70	150	90	57	70	22
N 403	100	70	175	68	49	110	< 10
N 405	110	70	193	78	69	101	< 10
N 406	110	65	178	99	54	88	13
N 407	120	70	135	60	45	70	< 10
N 408	130	85	161	113	51	68	11
N 410	120	80	197	182	89	88	27
N 411	110	80	198	59	75	97	< 10
N 412	120	70	167	59	59	84	< 10
N 414	110	60	198	78	89	96	< 10
N 416	115	70	185	101	45	116	< 10
N 419	120	80	170	160	45	91	< 10
N 420	100	60	215	206	67	113	18
N 421	120	70	162	62	60	72	11
N 423	110	65	166	79	62	78	17
N 424	120	70	176	83	70	78	13
N 425	100	70	178	130	72	80	14
N 426	118	70	180	68	62	91	< 10
N 428	135	75	206	73	73	113	< 10
N 430	120	70	188	75	64	100	< 10
N 431	100	65	155	55	50	87	20
N 432	115	70	172	192	70	74	< 10
N 433	110	70	220	113	87	97	< 10
N 434	120	70	187	46	88	62	< 10
N 435	120	70	215	82	83	101	< 10
N 438	125	100	218	100	57	128	13
N 439	130	90	140	65	48	65	< 10
N 440	110	70	156	37	71	68	< 10
N 441	100	80	191	56	79	100	< 10
N 442	100	70	178	52	72	90	< 10
N 450	110	65	181	94	90	69	< 10
N 452	110	80	194	105	84	86	< 10
N 453	105	70	193	195	62	107	< 10
N 454	115	80	181	111	52	98	< 10
N 455	110	70	156	76	67	74	< 10
N 458	110	80	138	115	79	45	< 10
N 459	100	60	199	70	80	109	< 10
N 460	100	60	183	89	65	100	< 10
N 461	130	70	156	90	46	91	< 10
N 462	110	70	199	95	69	102	< 10
N 463	120	80	189	55	63	102	12
N 464	110	70	220	96	90	122	< 10
N 465	115	80	138	133	48	71	< 10
N 468	110	70	164	45	81	60	< 10
N 469	90	70	165	51	69	82	15
N 470	110	70	220	69	73	128	< 10
N 471	110	65	135	80	68	48	< 10
N 474	110	70	164	128	52	78	< 10

Prob_Nr	RR_syst	RR_diast	Chol	Trigly	HDL	LDL	Lpa
N 475	110	70	194	90	54	107	< 10
N 476	100	70	201	119	64	115	< 10
N 477	100	60	192	94	90	84	< 10
N 478	140	90	181	73	46	108	19
N 479	100	60	194	70	75	102	< 10
N 482	100	65	162	50	54	83	< 10
N 483	95	60	196	54	82	86	18
N 488	95	60	170	45	71	99	< 10
N 489	120	70	201	93	81	114	< 10
N 491	110	70	173	54	66	93	< 10
N 492	115	70	141	72	56	78	< 10
N 497	120	70	170	131	59	92	< 10
N 498	100	60	215	83	76	128	16
N 499	110	70	167	131	45	109	10
N 500	120	80	173	34	68	94	29
N 501	115	80	176	71	75	83	< 10
N 504	110	70	184	71	79	94	< 10
N 506	100	70	163	83	57	98	< 10
N 507	120	70	204	118	90	102	< 10
N 508	110	70	184	75	69	99	24
N 509	110	80	183	120	60	111	< 10
N 510	120	80	157	51	67	83	< 10
N 513	110	80	155	75	69	81	< 10
N 514	100	70	209	180	78	116	< 10
N 517	120	70	144	36	62	75	< 10
N 518	100	70	211	63	74	130	13
N 519	100	70	176	111	73	91	11
N 522	100	60	179	77	47	115	< 10
N 524	110	80	185	133	52	111	11
N 525	100	60	144	56	73	64	< 10
N 526	120	70	172	63	51	115	18
N 528	130	80	205	109	60	130	13
N 529	105	60	155	95	54	91	< 10
N 530	110	70	220	88	88	121	< 10
N 531	120	80	175	73	51	113	< 10
N 532	90	60	163	98	54	100	10
N 533	120	70	165	92	81	73	< 10
N 534	100	60	158	58	51	99	< 10
N 535	110	70	216	241	45	130	< 10
N 536	140	70	203	90	84	104	< 10
N 537	100	70	168	49	89	66	< 10
N 541	95	60	125	63	52	69	< 10
N 542	100	70	179	151	104	52	< 10
N 543	100	60	183	48	69	111	< 10
N 545	110	80	139	77	47	77	< 10
N 547	120	70	190	72	95	73	11
N 548	100	70	191	81	83	111	< 10
N 551	120	90	172	45	61	115	< 10

Prob_Nr	RR_syst	RR_diast	Chol	Trigly	HDL	LDL	Lpa
N 552	100	65	133	91	52	78	< 10
N 553	120	80	125	56	55	71	< 10
N 555	100	60	157	48	62	89	< 10
N 556	105	70	182	67	95	81	< 10
N 557	110	70	174	96	71	92	29
N 558	105	60	163	57	72	93	10
N 559	130	80	164	90	52	98	< 10
N 562	110	70	117	54	52	55	< 10
N 563	100	60	181	70	60	126	< 10
N 566	120	80	200	184	81	114	< 10
N 567	110	60	201	70	103	97	< 10
N 568	100	80	129	34	67	60	< 10
N 569	100	75	166	72	74	94	< 10
N 570	80	60	152	62	51	95	< 10
N 571	120	80	178	67	79	94	< 10
N 573	90	60	166	50	78	90	< 10
N 575	110	70	201	71	77	113	24
N 577	110	70	205	145	75	112	< 10
N 578	120	80	143	56	71	68	< 10
N 579	120	80	178	162	61	96	< 10
N 580	130	80	167	60	71	89	16
N 581	110	70	206	61	83	130	11
N 582	125	70	201	118	76	113	< 10
N 583	100	70	195	57	83	108	< 10
N 584	120	70	168	77	76	93	< 10
N 585	95	60	192	55	108	97	< 10
N 586	95	70	144	48	69	68	< 10
N 591	120	70	212	110	69	122	16
N 595	120	80	191	107	91	101	< 10
N 597	110	80	173	58	87	84	< 10
N 598	115	80	194	83	58	113	< 10
N 599	120	70	170	89	70	98	< 10
N 900	115	70	173	65	66	107	< 10
N 901	130	90	199	199	69	119	< 10
N 902	105	60	183	259	50	114	18
N 903	90	70	146	71	63	79	14
N 905	115	70	209	93	67	130	< 10
N 906	120	70	183	44	68	108	< 10
N 907	110	70	191	56	82	90	< 10
N 908	130	80	148	74	68	67	< 10
N 909	110	70	167	71	45	111	< 10
N 910	115	70	213	91	91	107	26
N 911	120	70	177	51	92	76	< 10
N 914	100	70	220	38	91	121	< 10
N 915	110	80	195	79	55	129	< 10
N 916	95	70	163	88	47	92	< 10
N 918	120	60	198	159	58	120	< 10
N 920	125	70	193	110	66	115	< 10

Prob_Nr	RR_syst	RR_diast	Chol	Trigly	HDL	LDL	Lpa
N 921	115	70	153	59	56	91	22
N 922	90	60	186	33	82	93	< 10
N 923	100	70	208	71	91	118	< 10
N 924	130	80	175	133	64	102	< 10
N 925	110	70	182	69	63	114	< 10
N 926	120	75	187	142	68	121	< 10

Prob_Nr	Glucose	Homocyst	LDL/HDL	oxLDL	GPx_VB	GPx_Plas	GPx_Ery
N 400	86	11,1	1,1	4,500	9,610	0,659	9,313
N 401	86	8,3	1,2	115,880	10,749	0,746	10,302
N 402	72	9,4	1,2	148,500	12,811	0,597	12,493
N 403	84	8,8	2,2	146,450	10,063	0,514	9,785
N 405	91	8,0	1,5	56,079	9,675	0,490	9,373
N 406	97	7,1	1,6	32,276	12,740	0,755	12,376
N 407	93	9,4	1,7	4,500	10,102	0,474	9,833
N 408	94	10,6	1,3	145,210	12,768	0,398	12,534
N 410	83	8,9	1,0	113,230	11,153	0,576	10,806
N 411	91	8,3	1,3	128,020	10,446	0,515	10,199
N 412	89	20,6	1,4	169,030	11,660	0,377	11,422
N 414	88	8,9	1,1	42,000	13,754	1,034	13,106
N 416	80	6,0	2,6	17,650	16,301	0,529	15,982
N 419	92	11,5	2,0	24,300	11,956	0,389	11,753
N 420	89	6,6	1,7	384,990	20,352	0,578	19,969
N 421	85	11,3	1,2	162,660	12,326	0,432	12,065
N 423	84	6,2	1,3	13,575	17,595	0,545	17,214
N 424	100	10,1	1,1	64,793	10,754	0,584	10,443
N 425	90	5,7	1,1	59,398	14,493	0,479	14,217
N 426	91	14,0	1,5	567,810	12,140	0,455	11,907
N 428	79	11,4	1,5	150,540	14,303	0,426	14,008
N 430	82	11,6	1,6	31,592	12,220	0,450	11,998
N 431	76	11,5	1,7	149,320	14,241	0,416	13,978
N 432	70	6,1	1,1	27,950	14,526	0,537	14,188
N 433	71	8,3	1,1	11,639	11,660	0,627	11,344
N 434	68	9,5	0,7	625,460	11,937	0,413	11,677
N 435	82	8,0	1,2	219,310	16,376	0,387	16,100
N 438	98	7,8	2,2	44,453	12,263	0,437	11,991
N 439	88	20,0	1,4	39,495	10,682	0,383	10,439
N 440	87	8,1	1,0	141,900	11,643	0,664	11,301
N 441	77	9,9	1,3	1386,500	12,542	0,401	12,314
N 442	80	11,2	1,2	48,633	14,172	0,397	13,911
N 450	90	8,6	0,8	4,500	12,126	0,486	11,886
N 452	95	7,3	1,0	192,430	10,465	0,455	10,208
N 453	87	8,4	1,7	20,650	13,699	0,808	13,229
N 454	93	7,2	1,9	38,859	11,300	0,685	11,000
N 455	86	10,5	1,1	64,793	13,698	0,661	13,331

Prob_Nr	Glucose	Homocyst	LDL/HDL	oxLDL	GPx_VB	GPx_Plas	GPx_Ery
N 458	91	14,6	0,6	153,800	9,689	0,294	9,553
N 459	91	8,8	1,4	42,000	15,346	0,436	15,058
N 460	84	8,8	1,5	38,226	13,185	0,437	12,915
N 461	77	7,0	2,0	116,880	9,243	0,492	8,971
N 462	81	12,3	1,5	80,091	12,307	0,509	12,025
N 463	85	8,6	1,6	119,030	10,974	0,535	10,730
N 464	85	12,5	1,4	103,640	12,925	0,770	12,467
N 465	88	6,5	1,5	4166,000	10,969	0,382	10,719
N 468	74	13,5	0,7	91,551	13,140	0,956	12,730
N 469	90	11,7	1,2	368,200	14,921	0,587	14,589
N 470	64	8,8	1,8	73,812	17,466	0,465	17,169
N 471	76	8,0	0,7	4,500	11,644	0,707	11,372
N 474	92	11,2	1,5	310,920	12,420	0,478	12,183
N 475	100	15,8	2,0	292,070	11,197	0,397	10,915
N 476	81	13,8	1,8	43,829	8,180	0,425	7,962
N 477	85	8,2	0,9	1589,000	20,696	0,562	20,217
N 478	87	8,8	2,3	43,047	11,378	0,513	11,134
N 479	92	9,5	1,4	207,710	9,265	0,595	8,994
N 482	92	7,4	1,5	246,310	17,832	0,335	17,603
N 483	97	7,9	1,0	99,097	10,848	0,639	10,437
N 488	77	8,0	1,4	183,750	13,740	0,376	13,503
N 489	89	11,1	1,4	76,976	11,439	0,299	11,277
N 491	77	10,6	1,4	146,810	14,006	0,527	13,767
N 492	83	8,3	1,4	223,775	11,763	0,494	11,535
N 497	82	7,0	1,6	84,985	12,371	0,630	12,082
N 498	93	10,7	1,7	191,670	15,041	0,541	14,742
N 499	87	11,2	2,4	322,970	12,313	0,418	12,089
N 500	80	10,0	1,4	233,170	12,462	0,543	12,223
N 501	77	14,1	1,1	199,500	16,316	0,608	16,033
N 504	85	11,5	1,2	132,220	9,952		9,682
N 506	107	12,9	1,7	197,670	8,844	0,690	8,503
N 507	91	10,2	1,1	10,082	11,121	0,621	10,805
N 508	117	11,5	1,4	4,500	8,152	0,554	7,842
N 509	97	12,3	1,9	259,730	15,646	0,652	15,289
N 510	99	10,6	1,2	108,110	13,571	0,591	13,240
N 513	87	9,8	1,2	599,180	7,821	0,546	7,485
N 514	92	9,1	1,5	532,200	12,945	0,471	12,697
N 517	74	13,2	1,2	671,660	10,544	0,598	10,240
N 518	78	9,9	1,8	179,040	19,056	0,563	18,688
N 519	79	13,1	1,2	110,330	15,123	1,024	14,460
N 522	98	11,8	2,4	1366,900	11,256	0,329	11,101
N 524	84	14,8	2,1	290,240	13,203	0,304	13,021
N 525	79	9,1	0,9	1220,400	14,307	0,886	13,823
N 526	80	10,6	2,3	34,206	10,128	0,569	9,684
N 528	82	13,2	2,2	4,500	9,999	0,368	9,827
N 529	78	11,6	1,7	834,700	13,348	0,576	13,081
N 530	86	11,3	1,4	4,500	16,888	0,482	16,506
N 531	76	10,9	2,2	4,500	11,272	0,510	11,008



Prob_Nr	Glucose	Homocyst	LDL/HDL	oxLDL	GPx_VB	GPx_Plas	GPx_Ery
N 532	87	9,4	1,9	50,037	11,737	0,685	11,466
N 533	69	10,4	0,9	26,150	14,448	0,587	14,115
N 534	58	11,9	1,9	106,540	11,263	0,785	10,926
N 535	74	8,8	3,1	108,270	11,168	0,753	10,789
N 536	73	14,1	1,2	13,350	12,862	0,520	12,538
N 537	85	8,9	0,7	186,590	14,660	0,392	14,372
N 541	72	14,9	1,3	19,546	13,518	0,434	13,253
N 542	73	11,9	0,5	61,812	16,174	0,482	15,848
N 543	71	13,6	1,6	3088,000	13,756	0,372	13,539
N 545	81	13,1	1,6	58,900	14,715	0,432	14,405
N 547	82	13,1	0,8	198,680	11,296	0,947	10,845
N 548	76	12,2	1,3	4,500	14,999	0,467	14,721
N 551	82	13,9	1,9	289,260	11,158	0,372	10,933
N 552	79	11,5	1,5	112,960	11,774	0,349	11,593
N 553	74	12,1	1,3	440,970	12,616	0,459	12,347
N 555	77	9,8	1,4	124,200	20,064	0,441	19,863
N 556	68	9,3	0,9	139,040	12,901	0,681	12,509
N 557	113	11,1	1,3	21,283	17,696	0,884	17,386
N 558	91	11,7	1,3	270,280	16,876	0,503	16,633
N 559	71	11,8	1,9	4,500	13,236	0,574	12,859
N 562	72	18,1	1,1	95,498	10,081	0,427	9,886
N 563	75	12,9	2,1	571,330	10,820	0,454	10,586
N 566	69	15,2	1,4	4,500	14,196	0,413	13,914
N 567	83	8,4	0,9	71,199	17,631	0,350	17,395
N 568	75	18,5	0,9	4,500	12,355	0,361	12,110
N 569	66	9,4	1,3	85,827	15,715	0,549	15,422
N 570	81	8,7	1,9	41,492	14,290	0,522	13,984
N 571	92	7,7	1,2	789,310	17,448	0,496	17,170
N 573	81	10,1	1,2	80,589	17,470	0,431	17,219
N 575	76	11,9	1,5	16,802	20,061	0,532	19,744
N 577	81	8,9	1,5	774,850	12,212	0,374	12,020
N 578	83	14,8	1,0	93,231	15,713	0,602	15,276
N 579	91	13,7	1,6	67,965	11,950	0,415	11,691
N 580	96	9,0	1,3	729,470	11,234	0,739	10,875
N 581	71	12,5	1,6	26,750	13,515	0,365	13,291
N 582	69	14,2	1,5	287,190	17,489	0,473	17,212
N 583	81	11,9	1,3	78,635	13,637	0,615	13,324
N 584	72	10,7	1,2	219,060	17,321	0,678	16,862
N 585	81	10,1	0,9	131,450	17,743	0,774	17,315
N 586	76	10,3	1,0	64,247	14,894	0,394	14,687
N 591	79	14,1	1,8	260,240	15,139	0,398	14,891
N 595	78	13,6	1,1	283,690	14,396	0,601	14,108
N 597	64	9,9	1,0	797,380	15,162	0,501	14,858
N 598	70	13,0	1,9	499,720	11,507	0,567	11,188
N 599	83	9,4	1,4	489,900	16,144	0,470	15,798
N 900	75	10,5	1,6	175,890	10,608	0,433	10,407
N 901	73	15,1	1,7	239,900	13,749	0,587	13,409
N 902	88	7,1	2,3	80,010	10,301	0,667	9,916

Prob_Nr	Glucose	Homocyst	LDL/HDL	oxLDL	GPx_VB	GPx_Plas	GPx_Ery
N 903	81	9,3	1,3	191,280	13,498	0,536	13,205
N 905	60	12,1	2,0	411,990	13,834	0,782	13,454
N 906	81	14,5	1,6	56,512	12,155	0,660	11,783
N 907	62	11,2	1,1	847,300	12,872	0,621	12,498
N 908	67	11,6	1,0	74,446	12,648	0,380	12,441
N 909	82	15,9	2,5	397,130	11,562	0,444	11,230
N 910	75	9,9	1,2	26,136	13,492	0,804	13,192
N 911	75	10,8	0,8	40,293	17,881	0,401	17,591
N 914	73	11,9	1,3	118,890	13,296	0,319	13,115
N 915	85	12,2	2,3	17,578	12,668	0,668	12,328
N 916	90	12,7	2,2	4,500	12,708	0,566	12,358
N 918	76	10,1	2,1	1042,600	17,603	0,555	17,242
N 920	89	11,0	1,7	158,970	14,324	0,396	14,061
N 921	88	11,4	1,6	345,010	16,014	0,464	15,757
N 922	73	8,8	1,1	778,780	17,638	0,961	17,081
N 923	71	12,5	1,3	4,500	21,484	0,470	21,200
N 924	72	9,9	1,6	40,293	10,481	0,488	10,198
N 925	94	18,0	1,8	787,620	9,991	0,424	9,758
N 926	82	10,8	1,8	4,500	10,868	0,942	10,548

Prob_Nr	Prot_Plas	SOD	PTP	GR	Selen	IMT
N 400	74,617	303,734	5,112	1,449	63	0,0456
N 401	87,532	307,258	4,663	1,465	83	0,0395
N 402	88,379	371,053	5,225	1,310	84	0,0419
N 403	86,262	224,416	4,045	0,926	90	0,0530
N 405	89,226	237,949	4,607	1,284	86	0,0510
N 406	82,239	299,469	5,899	1,338	88	0,0392
N 407	82,027	222,581	4,494	1,224	73	0,0484
N 408	92,190	282,051	4,663	1,683	97	0,0454
N 410	82,874	177,931	3,708	1,157	83	0,0428
N 411	84,991	345,471	5,337	1,301	107	0,0374
N 412	102,353	203,894	5,056	1,725	86	0,0382
N 414	84,568	211,120	4,101	0,946	87	0,0538
N 416	93,037	251,681	5,056	1,673	83	0,0427
N 419	94,307	277,119	6,236	1,214	79	0,0549
N 420	88,802	293,812	6,404	1,852	89	0,0435
N 421	102,776	242,500	4,494	1,531	82	0,0408
N 423	84,991	287,892	4,494	1,550	93	0,0515
N 424	90,920	284,746	4,719	1,236	72	0,0534
N 425	79,910	287,892	4,157	1,498	78	0,0449
N 426	79,910	386,777	4,101	1,296	74	0,0510
N 428	97,271	283,117	4,270	1,077	78	0,0423
N 430	84,991	341,129	5,056	1,640	77	0,0396
N 431	107,434	220,084	4,551	1,549	79	0,0402
N 432	83,298	301,834	4,438	2,101	68	0,0486
N 433	79,487	229,839	4,101	1,447	76	0,0426
N 434	97,271	268,493	6,348	1,892	70	0,0386

Prob_Nr	Prot_Plas	SOD	PTP	GR	Selen	IMT
N 435	98,965	300,000	5,056	1,670	75	0,0437
N 438	96,424	233,333	4,775	1,874	70	0,0533
N 439	93,249	374,026	5,337	1,839	63	0,0413
N 440	66,783	194,410	4,944	1,524	47	0,0393
N 441	84,145	328,947	5,169	1,085	73	0,0389
N 442	84,145	259,322	5,843	1,828	73	0,0369
N 450	74,829	301,215	3,876	1,190	65	0,0455
N 452	76,946	188,793	4,944	1,320	70	0,0452
N 453	82,027	257,895	5,000	1,587	84	0,0434
N 454	67,630	338,462	5,618	1,599	82	0,0415
N 455	87,532	328,696	4,551	1,570	78	0,0494
N 458	96,848	272,000	4,775	0,875	78	0,0387
N 459	80,334	203,154	4,719	1,296	61	0,0505
N 460	87,532	258,921	3,989	1,858	77	0,0472
N 461	98,118	181,593	6,011	1,287	80	0,0512
N 462	97,271	385,345	6,854	0,943	78	0,0505
N 463	76,946	286,805	3,258	0,972	83	0,0404
N 464	99,812	189,744	6,348	0,901	97	0,0366
N 465	103,623	187,965	4,494	0,863	102	0,0501
N 468	75,676	178,407	6,348	0,892	79	0,0466
N 469	89,226	347,368	5,337	1,621	102	0,0473
N 470	88,802	242,882	4,438	0,996	98	0,0444
N 471	53,657	307,500	5,449	0,970	59	0,0390
N 474	93,460	293,950	5,169	0,948	119	0,0455
N 475	98,753	256,929	4,157	1,319	76	0,0381
N 476	89,226	202,759	4,101	1,444	93	0,0492
N 477	101,929	252,414	3,708	1,267	111	0,0499
N 478	68,901	185,000	4,270	2,033	90	0,0459
N 479	71,865	193,220	4,326	0,949	75	0,0411
N 482	102,776	215,385	5,225	2,058	87	0,0349
N 483	87,532	202,564	4,719	1,004	91	0,0502
N 488	80,334	186,842	3,989	2,076	97	0,0431
N 489	94,731	330,942	4,663	1,223	92	0,0420
N 491	78,640	212,069	5,674	1,167	118	0,0373
N 492	85,838	321,770	4,888	1,505	100	0,0538
N 497	76,099	273,982	4,719	1,823	108	0,0467
N 498	90,920	313,184	7,022	1,195	103	0,0386
N 499	98,542	235,897	5,169	1,102	104	0,0350
N 500	73,982	235,752	5,337	1,319	114	0,0415
N 501	77,793	349,185	4,719	1,058	93	0,0470
N 504		313,184	5,899	0,985	100	0,0419
N 506	96,001	363,186	5,955	1,234	118	0,0414
N 507	82,874	301,345	4,719	1,558	102	0,0394
N 508	96,848	370,815	5,281	1,093	103	0,0618
N 509	98,118	237,913	7,135	1,164	99	0,0395
N 510	89,226	301,333	4,831	1,232	90	0,0434
N 513	82,451	255,451	4,382	1,619	100	0,0367
N 514	76,523	316,183	4,326	1,175	97	0,0375

Prob_Nr	Prot_Plas	SOD	PTP	GR	Selen	IMT
N 517	90,920	237,143	4,607	1,026	85	0,0448
N 518	82,027	245,714	5,112	1,656	90	0,0464
N 519	85,415	197,500	5,000	0,951	93	0,0388
N 522	94,731	205,479	4,382	0,566	94	0,0362
N 524	95,154	332,556	5,506	1,066	80	0,0461
N 525	66,783	210,744	4,045	1,460	84	0,0410
N 526	112,515	247,200	3,652	0,948	78	0,0581
N 528	93,460	291,130	5,393	0,997	99	0,0520
N 529	88,802	255,126	5,674	1,191	106	0,0441
N 530	93,460	188,571	4,101	2,145	91	0,0358
N 531	91,343	381,600	4,157	1,036	94	0,0521
N 532	76,523	184,779	4,213	1,579	79	0,0396
N 533	81,604	285,809	5,843	0,800	79	0,0405
N 534	90,496	338,462	5,225	0,824	90	0,0393
N 535	87,956	328,000	4,944	0,829	92	0,0425
N 536	92,190	288,312	4,213	1,271	79	0,0522
N 537	82,874	249,432	3,764	1,329	77	0,0518
N 541	97,695	316,596	4,888	1,013	97	0,0407
N 542	100,659	214,286	5,225	1,596	100	0,0454
N 543	82,874	194,521	4,607	1,358	80	0,0367
N 545	93,037	249,052	4,101	1,412	74	0,0418
N 547	78,640	335,065	3,596	1,461	86	0,0518
N 548	96,424	280,830	4,888	1,026	92	0,0412
N 551	99,389	210,667	5,562	1,534	107	0,0454
N 552	87,532	183,830	4,831	0,879	83	0,0461
N 553	96,001	253,333	5,562	0,973	98	0,0462
N 555	71,441	235,897	4,213	1,401	100	0,0389
N 556	85,415	210,256	5,955	1,039	94	0,0476
N 557	60,008	261,239	5,843	1,359	109	0,0451
N 558	78,640	217,949	6,067	1,306	85	0,0452
N 559	110,821	329,327	4,944	1,049	90	0,0491
N 562	86,685	273,191	5,169	1,040	91	0,0533
N 563	93,460	195,968	5,843	1,650	78	0,0351
N 566	107,434	360,538	4,888	1,013	92	0,0356
N 567	91,767	243,836	3,146	1,572	65	0,0456
N 568	83,721	368,421	3,652	1,147	64	0,0436
N 569	79,063	179,253	5,169	1,310	79	0,0475
N 570	78,216	233,846	4,775	1,480	74	0,0401
N 571	87,532	300,000	3,876	1,638	87	0,0511
N 573	94,731	198,305	4,888	0,840	108	0,0522
N 575	90,073	307,438	6,236	1,541	86	0,0529
N 577	81,604	241,096	3,989	1,820	81	0,0489
N 578	84,145	382,063	4,551	2,360	70	0,0528
N 579	96,848	248,610	4,719	1,203	84	0,0613
N 580	88,379	304,036	5,674	1,542	104	0,0534
N 581	94,307	221,459	4,270	1,271	77	0,0479
N 582	81,604	337,652	5,393	1,168	88	0,0398
N 583	79,487	258,655	4,719	1,277	69	0,0466

<b>Prob_Nr</b>	<b>Prot_Plas</b>	<b>SOD</b>	<b>PTP</b>	<b>GR</b>	<b>Selen</b>	<b>IMT</b>
<b>N 584</b>	90,073	260,000	5,112	1,544	97	0,0398
<b>N 585</b>	84,145	183,562	5,562	1,692	99	0,0398
<b>N 586</b>	75,041	205,128	3,989	1,422	82	0,0366
<b>N 591</b>	92,825	241,935	4,494	1,423	85	0,0456
<b>N 595</b>	82,451	203,894	5,562	1,233	90	0,0479
<b>N 597</b>	87,956	248,496	4,101	1,674	81	0,0473
<b>N 598</b>	94,731	257,895	4,382	1,730	81	0,0614
<b>N 599</b>	95,154	233,333	4,663	1,844	77	0,0398
<b>N 900</b>	91,343	313,600	5,562	1,062	89	0,0484
<b>N 901</b>	86,262	322,078	4,551	1,178	90	0,0513
<b>N 902</b>	86,262	300,000	4,213	1,094	82	0,0494
<b>N 903</b>	78,640	215,584	4,213	1,357	90	0,0431
<b>N 905</b>	75,252	263,158	5,955	1,070	82	0,0457
<b>N 906</b>	80,334	311,297	4,270	1,013	96	0,0568
<b>N 907</b>	96,848	361,644	4,326	1,219	96	0,0421
<b>N 908</b>	98,118	304,000	5,337	1,527	105	0,0483
<b>N 909</b>	98,542	191,489	4,663	1,512	80	0,0511
<b>N 910</b>	52,810	233,333	4,326	1,545	89	0,0495
<b>N 911</b>	101,082	297,581	4,157	1,728	89	0,0475
<b>N 914</b>	89,226	207,895	5,393	1,094	120	0,0476
<b>N 915</b>	79,910	242,667	4,326	0,991	78	0,0444
<b>N 916</b>	94,942	325,424	4,775	1,363	78	0,0445
<b>N 918</b>	92,190	312,500	4,438	1,012	81	0,0565
<b>N 920</b>	107,857	265,789	4,270	1,088	102	0,0461
<b>N 921</b>	96,424	371,901	5,899	1,001	90	0,0525
<b>N 922</b>	62,549	367,241	4,438	1,147	92	0,0473
<b>N 923</b>	87,532	222,500	5,281	1,875	91	0,0451
<b>N 924</b>	90,920	278,133	4,382	0,915	83	0,0475
<b>N 925</b>	87,109	190,795	4,101	1,267	80	0,0514
<b>N 926</b>	62,973	197,333	3,989	0,858	81	0,0520

**Univariater Zusammenhang der möglichen Einflussgrößen untereinander**  
**- stetige Einflussfaktoren mit stetigen Einflussfaktoren -**  
 Spearman-Rang-Korrelation

The CORR Procedure

25 Variables:	Alter Lpa PTP	Groesse Glucose GR	Gewicht Homocyst Selen	BMI LDL_HDL	Hueftumf oxLDL	Taille GPx_VB	Chol GPx_Plas	Trigly GPx_Ery	HDL Prot_Plas	LDL SOD
------------------	---------------------	--------------------------	------------------------------	----------------	-------------------	------------------	------------------	-------------------	------------------	------------

	Alter	Groesse	Gewicht	BMI	Hueftumf	Taille
Alter	1.00000	0.09753	0.23548	0.25619	0.12302	0.31196
Alter		0.2319	0.0035	0.0014	0.1311	<.0001
	152	152	152	152	152	152
Groesse	0.09753	1.00000	0.72194	0.22657	0.36013	0.53796
Groesse		0.2319	<.0001	0.0050	<.0001	<.0001
	152	152	152	152	152	152
Gewicht	0.23548	0.72194	1.00000	0.81927	0.67816	0.85025
Gewicht		<.0001		<.0001	<.0001	<.0001
	152	152	152	152	152	152
BMI	0.25619	0.22657	0.81927	1.00000	0.66621	0.76600
BMI		0.0050	<.0001		<.0001	<.0001
	152	152	152	152	152	152
Hueftumf	0.12302	0.36013	0.67816	0.66621	1.00000	0.64897
Hüftumfang [cm]		<.0001	<.0001	<.0001		<.0001
	152	152	152	152	152	152
Taille	0.31196	0.53796	0.85025	0.76600	0.64897	1.00000
Taillenumfang [cm]		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	
	152	152	152	152	152	152
Chol	0.03527	-0.21292	-0.15919	-0.04393	-0.04469	-0.13829
Cholesterin nüchtern [mg/dl]		0.0084	0.0501	0.5910	0.5845	0.0893
	152	152	152	152	152	152
Trigly	0.08625	-0.09266	-0.01029	0.07158	0.12745	0.09457
Triglyceride nüchtern [mg/dl]		0.2562	0.8999	0.3809	0.1176	0.2465
	152	152	152	152	152	152
HDL	-0.05752	-0.30729	-0.33721	-0.23956	-0.20992	-0.39553
HDL nüchtern [mg/dl]		0.0001	<.0001	0.0030	0.0094	<.0001
	152	152	152	152	152	152
LDL	-0.05356	-0.08571	-0.01589	0.05595	-0.02758	0.00811
LDL nüchtern [mg/dl]		0.2938	0.8460	0.4936	0.7359	0.9210
	152	152	152	152	152	152
Lpa	0.05277	0.13851	0.12831	0.06579	0.07134	0.10731
Lipoprotein a [mg/dl]		0.0888	0.1152	0.4206	0.3824	0.1882
	152	152	152	152	152	152
Glucose	0.15848	0.17807	0.20791	0.18244	0.24744	0.29210
Glucose nüchtern [mg/dl]		0.0282	0.0102	0.0245	0.0021	0.0003
	152	152	152	152	152	152
Homocyst	0.02546	0.22420	0.17261	0.06288	-0.07244	0.07152
Homocystein [µmol/l]		0.0055	0.0335	0.4415	0.3751	0.3812
	152	152	152	152	152	152

	Alter	Groesse	Gewicht	BMI	Hueftumf	Taille
LDL_HDL	0.01302	0.15271	0.22405	0.20355	0.12567	0.29338
Quotient LDL/HDL	0.8736	0.0603	0.0055	0.0119	0.1229	0.0002
	152	152	152	152	152	152
oxLDL	-0.11745	0.08840	-0.02760	-0.14156	-0.15206	-0.07988
oxidiertes LDL [ng/ml]	0.1496	0.2788	0.7357	0.0819	0.0615	0.3280
	152	152	152	152	152	152
GPx_VB	-0.03705	-0.25375	-0.29094	-0.22438	-0.27736	-0.27201
Glutathionperox.[U/(g Hb)]	0.6504	0.0016	0.0003	0.0055	0.0005	0.0007
	152	152	152	152	152	152
GPx_Plas	-0.05607	0.03322	-0.05132	-0.10188	-0.06448	-0.07477
Glutathionperox.[U/(g Protein)]	0.4941	0.6855	0.5315	0.2132	0.4315	0.3615
	151	151	151	151	151	151
GPx_Ery	-0.03493	-0.25252	-0.29074	-0.22500	-0.28020	-0.26933
Glutathionperox.Erythr.[U/(g Hb)]	0.6692	0.0017	0.0003	0.0053	0.0005	0.0008
	152	152	152	152	152	152
Prot_Plas	0.04209	0.11553	0.11345	0.05870	0.00327	0.08765
Protein im Plasma [mg/ml]	0.6079	0.1578	0.1654	0.4740	0.9682	0.2845
	151	151	151	151	151	151
SOD	0.15375	0.18084	0.11174	0.03905	-0.03560	0.12969
Enzymakt.Superoxiddismut.[U/ml]	0.0586	0.0258	0.1705	0.6329	0.6633	0.1113
	152	152	152	152	152	152
PTP	0.01404	0.30052	0.12686	-0.05205	-0.07933	0.13766
Enzymakt.Prot.TyrosinPhosphat.[U/ml]	0.8637	0.0002	0.1194	0.5243	0.3313	0.0908
	152	152	152	152	152	152
GR	0.17492	-0.05790	-0.02443	-0.00157	0.07907	0.04275
Glutathionreduktase [U/(g Hb)]	0.0311	0.4786	0.7652	0.9847	0.3329	0.6010
	152	152	152	152	152	152
Selen	0.09001	0.17751	0.11692	0.01627	-0.09066	0.03713
Selen [µg/l]	0.2701	0.0287	0.1514	0.8423	0.2667	0.6498
	152	152	152	152	152	152

	Chol	Trigly	HDL	LDL	Lpa	Glucose
Alter	0.03527	0.08625	-0.05752	-0.05356	0.05277	0.15848
Alter	0.6662	0.2907	0.4815	0.5123	0.5185	0.0512
	152	152	152	152	152	152
Groesse	-0.21292	-0.09266	-0.30729	-0.08571	0.13851	0.17807
Groesse	0.0084	0.2562	0.0001	0.2938	0.0888	0.0282
	152	152	152	152	152	152
Gewicht	-0.15919	-0.01029	-0.33721	-0.01589	0.12831	0.20791
Gewicht	0.0501	0.8999	<.0001	0.8460	0.1152	0.0102
	152	152	152	152	152	152
BMI	-0.04393	0.07158	-0.23956	0.05595	0.06579	0.18244
BMI	0.5910	0.3809	0.0030	0.4936	0.4206	0.0245
	152	152	152	152	152	152
Hueftumf	-0.04469	0.12745	-0.20992	-0.02758	0.07134	0.24744
Hüftumfang [cm]	0.5845	0.1176	0.0094	0.7359	0.3824	0.0021
	152	152	152	152	152	152
Taille	-0.13829	0.09457	-0.39553	0.00811	0.10731	0.29210
Taillenumfang [cm]	0.0893	0.2465	<.0001	0.9210	0.1882	0.0003
	152	152	152	152	152	152
Chol	1.00000	0.32958	0.48362	0.73843	0.06585	-0.01366
Cholesterin nüchtern [mg/dl]		<.0001	<.0001	<.0001	0.4202	0.8673
	152	152	152	152	152	152

	Chol	Trigly	HDL	LDL	Lpa	Glucose
Trigly Triglyceride nüchtern [mg/dl]	0.32958 <.0001 152	1.00000 152	-0.10779 0.1862 152	0.29083 0.0003 152	0.07102 0.3846 152	0.16926 0.0371 152
HDL HDL nüchtern [mg/dl]	0.48362 <.0001 152	-0.10779 0.1862 152	1.00000 152	-0.01972 0.8094 152	-0.08015 0.3263 152	-0.18678 0.0212 152
LDL LDL nüchtern [mg/dl]	0.73843 <.0001 152	0.29083 0.0003 152	-0.01972 0.8094 152	1.00000 152	0.05982 0.4641 152	-0.02704 0.7409 152
Lpa Lipoprotein a [mg/dl]	0.06585 0.4202 152	0.07102 0.3846 152	-0.08015 0.3263 152	0.05982 0.4641 152	1.00000 152	0.22893 0.0046 152
Glucose Glucose nüchtern [mg/dl]	-0.01366 0.8673 152	0.16926 0.0371 152	-0.18678 0.0212 152	-0.02704 0.7409 152	0.22893 0.0046 152	1.00000 152
Homocyst Homocystein [µmol/l]	-0.05683 0.4868 152	-0.10981 0.1781 152	-0.06347 0.4373 152	0.11175 0.1705 152	-0.12449 0.1265 152	-0.19526 0.0159 152
LDL_HDL Quotient LDL/HDL	0.16659 0.0402 152	0.29158 0.0003 152	-0.70394 <.0001 152	0.68844 <.0001 152	0.10156 0.2131 152	0.13640 0.0938 152
oxLDL oxidiertes LDL [ng/ml]	-0.04952 0.5446 152	-0.14607 0.0725 152	0.00783 0.9237 152	-0.00843 0.9179 152	-0.04535 0.5790 152	0.02281 0.7803 152
GPx_VB Glutathionperox.[U/(g Hb)]	0.13147 0.1064 152	-0.07314 0.3706 152	0.34204 <.0001 152	0.03361 0.6810 152	0.03182 0.6972 152	-0.26004 0.0012 152
GPx_Plas Glutathionperox.[U/(g Protein)]	0.05033 0.5394 151	0.09583 0.2418 151	0.12743 0.1189 151	-0.03790 0.6441 151	0.13815 0.0907 151	-0.01165 0.8871 151
GPx_Ery Glutathionperox.Erythr.[U/(g Hb)]	0.12638 0.1208 152	-0.07663 0.3480 152	0.33759 <.0001 152	0.03417 0.6760 152	0.03130 0.7018 152	-0.25894 0.0013 152
Prot_Plas Protein im Plasma [mg/ml]	-0.00257 0.9750 151	0.12680 0.1208 151	-0.20449 0.0118 151	0.11668 0.1537 151	-0.04171 0.6111 151	0.00524 0.9491 151
SOD Enzymakt.Superoxiddismut.[U/ml]	-0.01799 0.8259 152	0.09432 0.2478 152	-0.07670 0.3476 152	-0.08750 0.2838 152	0.01984 0.8083 152	0.00242 0.9764 152
PTP Enzymakt.Prot.TyrosinPhosphat.[U/ml]	-0.07031 0.3894 152	0.00623 0.9392 152	-0.07642 0.3494 152	-0.01006 0.9021 152	0.05539 0.4979 152	-0.02196 0.7883 152
GR Glutathionreduktase [U/(g Hb)]	0.00835 0.9186 152	-0.08124 0.3198 152	0.08148 0.3183 152	-0.10635 0.1922 152	0.08331 0.3075 152	0.08760 0.2832 152
Selen Selen [µg/l]	0.02797 0.7323 152	0.03489 0.6696 152	0.01837 0.8222 152	0.12660 0.1201 152	0.11434 0.1607 152	0.00862 0.9160 152



Spearman Correlation Coefficients Prob >  r  under H0: Rho=0 Number of Observations							
	Homocyst	LDL_HDL	oxLDL	GPx_VB	GPx_Plas	GPx_Ery	Prot_Plas
Alter	0.02546	0.01302	-0.11745	-0.03705	-0.05607	-0.03493	0.04209
Alter	0.7555	0.8736	0.1496	0.6504	0.4941	0.6692	0.6079
	152	152	152	152	151	152	151
Groesse	0.22420	0.15271	0.08840	-0.25375	0.03322	-0.25252	0.11553
Groesse	0.0055	0.0603	0.2788	0.0016	0.6855	0.0017	0.1578
	152	152	152	152	151	152	151
Gewicht	0.17261	0.22405	-0.02760	-0.29094	-0.05132	-0.29074	0.11345
Gewicht	0.0335	0.0055	0.7357	0.0003	0.5315	0.0003	0.1654
	152	152	152	152	151	152	151
BMI	0.06288	0.20355	-0.14156	-0.22438	-0.10188	-0.22500	0.05870
BMI	0.4415	0.0119	0.0819	0.0055	0.2132	0.0053	0.4740
	152	152	152	152	151	152	151
Hueftumf	-0.07244	0.12567	-0.15206	-0.27736	-0.06448	-0.28020	0.00327
Hüftumfang [cm]	0.3751	0.1229	0.0615	0.0005	0.4315	0.0005	0.9682
	152	152	152	152	151	152	151
Taille	0.07152	0.29338	-0.07988	-0.27201	-0.07477	-0.26933	0.08765
Taillenumfang [cm]	0.3812	0.0002	0.3280	0.0007	0.3615	0.0008	0.2845
	152	152	152	152	151	152	151
Chol	-0.05683	0.16659	-0.04952	0.13147	0.05033	0.12638	-0.00257
Cholesterin nüchtern [mg/dl]	0.4868	0.0402	0.5446	0.1064	0.5394	0.1208	0.9750
	152	152	152	152	151	152	151
Trigly	-0.10981	0.29158	-0.14607	-0.07314	0.09583	-0.07663	0.12680
Triglyceride nüchtern [mg/dl]	0.1781	0.0003	0.0725	0.3706	0.2418	0.3480	0.1208
	152	152	152	152	151	152	151
HDL	-0.06347	-0.70394	0.00783	0.34204	0.12743	0.33759	-0.20449
HDL nüchtern [mg/dl]	0.4373	<.0001	0.9237	<.0001	0.1189	<.0001	0.0118
	152	152	152	152	151	152	151
LDL	0.11175	0.68844	-0.00843	0.03361	-0.03790	0.03417	0.11668
LDL nüchtern [mg/dl]	0.1705	<.0001	0.9179	0.6810	0.6441	0.6760	0.1537
	152	152	152	152	151	152	151
Lpa	-0.12449	0.10156	-0.04535	0.03182	0.13815	0.03130	-0.04171
Lipoprotein a [mg/dl]	0.1265	0.2131	0.5790	0.6972	0.0907	0.7018	0.6111
	152	152	152	152	151	152	151
Glucose	-0.19526	0.13640	0.02281	-0.26004	-0.01165	-0.25894	0.00524
Glucose nüchtern [mg/dl]	0.0159	0.0938	0.7803	0.0012	0.8871	0.0013	0.9491
	152	152	152	152	151	152	151
Homocyst	1.00000	0.10714	0.03734	-0.05583	-0.20407	-0.04884	0.30148
Homocystein [µmol/l]		0.1889	0.6479	0.4945	0.0120	0.5501	0.0002
	152	152	152	152	151	152	151
LDL_HDL	0.10714	1.00000	0.00835	-0.19833	-0.11980	-0.19592	0.22989
Quotient LDL/HDL	0.1889		0.9187	0.0143	0.1429	0.0156	0.0045
	152	152	152	152	151	152	151
oxLDL	0.03734	0.00835	1.00000	0.06254	-0.09815	0.06418	0.10250
oxidiertes LDL [ng/ml]	0.6479	0.9187		0.4440	0.2306	0.4321	0.2104
	152	152	152	152	151	152	151
GPx_VB	-0.05583	-0.19833	0.06254	1.00000	0.00526	0.99899	-0.01732
Glutathionperox.[U/(g Hb)]	0.4945	0.0143	0.4440		0.9489	<.0001	0.8328
	152	152	152	152	151	152	151

Spearman Correlation Coefficients Prob >  r  under H0: Rho=0 Number of Observations							
	Homocyst	LDL_HDL	oxLDL	GPx_VB	GPx_Plas	GPx_Ery	Prot_Plas
GPx_Plas Glutathionperox.[U/(g Protein)]	-0.20407 0.0120 151	-0.11980 0.1429 151	-0.09815 0.2306 151	0.00526 0.9489 151	1.00000  151	-0.02130 0.7951 151	-0.45122 <.0001 151
GPx_Ery Glutathionperox.Erythr.[U/(g Hb)]	-0.04884 0.5501 152	-0.19592 0.0156 152	0.06418 0.4321 152	0.99899 <.0001 152	-0.02130 0.7951 151	1.00000  152	-0.00965 0.9064 151
Prot_Plas Protein im Plasma [mg/ml]	0.30148 0.0002 151	0.22989 0.0045 151	0.10250 0.2104 151	-0.01732 0.8328 151	-0.45122 <.0001 151	-0.00965 0.9064 151	1.00000  151
SOD Enzymakt.Superoxiddismut.[U/ml]	0.13110 0.1074 152	-0.02763 0.7354 152	-0.09238 0.2576 152	-0.01742 0.8313 152	0.09637 0.2392 151	-0.01801 0.8257 152	0.09234 0.2595 151
PTP Enzymakt.Prot.TyrosinPhosphat.[U/ml]	0.15659 0.0540 152	0.06541 0.4234 152	0.05729 0.4833 152	0.04774 0.5592 152	0.10773 0.1880 151	0.05055 0.5362 152	0.15557 0.0565 151
GR Glutathionreduktase [U/(g Hb)]	-0.22086 0.0063 152	-0.11689 0.1515 152	0.00981 0.9045 152	0.26164 0.0011 152	-0.10325 0.2071 151	0.26726 0.0009 152	-0.06194 0.4499 151
Selen Selen [µg/l]	0.05201 0.5245 152	0.06983 0.3926 152	0.20302 0.0121 152	0.09131 0.2632 152	0.10406 0.2035 151	0.09097 0.2650 152	0.16778 0.0395 151

Spearman Correlation Coefficients Prob >  r  under H0: Rho=0 Number of Observations				
	SOD	PTP	GR	Selen
Alter Alter	0.15375 0.0586 152	0.01404 0.8637 152	0.17492 0.0311 152	0.09001 0.2701 152
Groesse Groesse	0.18084 0.0258 152	0.30052 0.0002 152	-0.05790 0.4786 152	0.17751 0.0287 152
Gewicht Gewicht	0.11174 0.1705 152	0.12686 0.1194 152	-0.02443 0.7652 152	0.11692 0.1514 152
BMI BMI	0.03905 0.6329 152	-0.05205 0.5243 152	-0.00157 0.9847 152	0.01627 0.8423 152
Hueftumf Hüftumfang [cm]	-0.03560 0.6633 152	-0.07933 0.3313 152	0.07907 0.3329 152	-0.09066 0.2667 152
Taille Taillenumfang [cm]	0.12969 0.1113 152	0.13766 0.0908 152	0.04275 0.6010 152	0.03713 0.6498 152
Chol Cholesterin nüchtern [mg/dl]	-0.01799 0.8259 152	-0.07031 0.3894 152	0.00835 0.9186 152	0.02797 0.7323 152
Trigly Triglyceride nüchtern [mg/dl]	0.09432 0.2478 152	0.00623 0.9392 152	-0.08124 0.3198 152	0.03489 0.6696 152

Spearman Correlation Coefficients Prob >  r  under H0: Rho=0 Number of Observations				
	SOD	PTP	GR	Selen
HDL HDL nüchtern [mg/dl]	-0.07670 0.3476 152	-0.07642 0.3494 152	0.08148 0.3183 152	0.01837 0.8222 152
LDL LDL nüchtern [mg/dl]	-0.08750 0.2838 152	-0.01006 0.9021 152	-0.10635 0.1922 152	0.12660 0.1201 152
Lpa Lipoprotein a [mg/dl]	0.01984 0.8083 152	0.05539 0.4979 152	0.08331 0.3075 152	0.11434 0.1607 152
Glucose Glucose nüchtern [mg/dl]	0.00242 0.9764 152	-0.02196 0.7883 152	0.08760 0.2832 152	0.00862 0.9160 152
Homocyst Homocystein [µmol/l]	0.13110 0.1074 152	0.15659 0.0540 152	-0.22086 0.0063 152	0.05201 0.5245 152
LDL_HDL Quotient LDL/HDL	-0.02763 0.7354 152	0.06541 0.4234 152	-0.11689 0.1515 152	0.06983 0.3926 152
oxLDL oxidiertes LDL [ng/ml]	-0.09238 0.2576 152	0.05729 0.4833 152	0.00981 0.9045 152	0.20302 0.0121 152
GPx_VB Glutathionperox.[U/(g Hb)]	-0.01742 0.8313 152	0.04774 0.5592 152	0.26164 0.0011 152	0.09131 0.2632 152
GPx_Plas Glutathionperox.[U/(g Protein)]	0.09637 0.2392 151	0.10773 0.1880 151	-0.10325 0.2071 151	0.10406 0.2035 151
GPx_Ery Glutathionperox.Erythr.[U/(g Hb)]	-0.01801 0.8257 152	0.05055 0.5362 152	0.26726 0.0009 152	0.09097 0.2650 152
Prot_Plas Protein im Plasma [mg/ml]	0.09234 0.2595 151	0.15557 0.0565 151	-0.06194 0.4499 151	0.16778 0.0395 151
SOD Enzymakt.Superoxiddismut.[U/ml]	1.00000  152	0.12817 0.1156 152	-0.07338 0.3689 152	0.03337 0.6831 152
PTP Enzymakt.Prot.TyrosinPhosphat.[U/ml]	0.12817 0.1156 152	1.00000  152	-0.07150 0.3814 152	0.23904 0.0030 152
GR Glutathionreduktase [U/(g Hb)]	-0.07338 0.3689 152	-0.07150 0.3814 152	1.00000  152	-0.17426 0.0318 152
Selen Selen [µg/l]	0.03337 0.6831 152	0.23904 0.0030 152	-0.17426 0.0318 152	1.00000  152

<h2 style="margin: 0;"><u>Daten zur Person</u></h2>		Proband Nr. <div style="border: 1px solid black; width: 100px; height: 40px; margin: 5px auto;"></div>	
Name:			
Vorname:			
E-Mail:			
Telefonnummer:			
Geburtsdatum:			
Geschlecht:	weiblich <input type="radio"/> männlich <input type="radio"/>		
Größe (cm):		} BMI (kg/m²): <span style="border-bottom: 1px solid black; width: 100px;"></span>	
Gewicht (kg):			
Taillenumfang (cm):			
Hüftumfang (cm):			
		Nein	Ja
• Nehmen Sie regelmäßig Medikamente ein? Wenn ja, welche: <span style="border-bottom: 1px solid black; width: 150px;"></span>		O	O
• Erkrankungen: <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> Diabetes (Zuckerkrankheit)</li> <li><input type="radio"/> Art. Hypertonie (Bluthochdruck)</li> <li><input type="radio"/> Herzerkrankungen</li> <li><input type="radio"/> Gefäßerkrankungen</li> <li><input type="radio"/> Andere: <span style="border-bottom: 1px solid black; width: 100px;"></span></li> </ul>		O	O
• Rauchen Sie?		O	O
• Haben Sie Allergien? Wenn ja, welche: <span style="border-bottom: 1px solid black; width: 150px;"></span>		O	O
• Haben Sie Verwandte 1. Grades, bei denen im Alter < 50 Jahren ein Herz- oder Hirninfarkt aufgetreten ist?		O	O
• Besteht bei Ihnen aktuell eine Schwangerschaft?		O	O
<div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 10px;"> <span style="border-bottom: 1px solid black; width: 40%;"></span> <span style="border-bottom: 1px solid black; width: 40%;"></span> </div>			
Ort, Datum		Unterschrift	

Abb. 13 Probanden Anamnesebogen

## 8. Literaturverzeichnis

Ashfaq, S.; Abramson, J. L.; Jones, D. P.; Rhodes, S. D; Weintraub, W. S.; Hooper, W. C; Vaccarino, V; Harrison, D. G.; Quyyumi, A. A. (2006): The Relationship Between Plasma Levels of Oxidized and Reduced Thiols and Early Atherosclerosis in Healthy Adults. In: J. Am. Coll. Cardiol. 47, 1005-1011.

Aminbakhsh, A; Mancini, GB. (1999): Carotid intima-media thickness measurements: what defines an abnormality? A systematic review. In: Clin Invest Med. 22(4), 149-157.

Baldassarre, D.; Tremoli, E.; Franceschini, G.; Michelagnoli S.; Sirtori, CR. (1996): Plasma lipoprotein(a) is an independent factor associated with carotid wall thickening in severely but not moderately hypercholesterolemic patients. In: Stroke. 27(6), 1044-1049.

Bassenge, E.; Schneider, H. T.; Daiber, A. (2005): Oxidativer Stress und kardiovaskuläre Erkrankungen / Oxidative stress and cardiovascular diseases. In: Dtsch med Wochenschr. 130(50), 2904-2909.

Bastaki, M.; Huen, K.; Manzanillo, P.; Chande, N.; Chen, C.; Balmes, J.R.; Tager, I. B.; Holland, N. (2006): Genotype-activity relationship for Mn-superoxide dismutase, glutathione peroxidase 1 and catalase in humans. In: Pharmacogenet Genomics. 16(4), 279-286.

Bauer, M.; Möhlenkamp, S.; Erbel R. (2007): Intima-Media-Dicke als Surrogatmarker einer subklinischen Arteriosklerose. In: Herz. 32(5), 372-378.

Bayr, H. (2005): Reactive oxygen species. In: Critical Care Medicine. 33(12), 498-501.

Benetos, A.; Waeber, B.; Izzo, J.; Mitchell, G.; Resnick, L.; Asmar, R.; Safar, M. (2002): Influence of Age, Risk Factors, and Cardiovascular and Renal Disease on Arterial Stiffness. In: Clinical Applications. 15, 1101–1108.

Berliner, J. A; Navab, M.; Fogelman, A. M.; Frank, J. S.; Demer, L. L.; Edwards, P. A.; Watson, A. D.; Lusis, A. J. (1995): Atherosclerosis: Basic Mechanisms, Oxidation, Inflammation and Genetics. In: Circulation. 91, 2488-2496.

Blankenberg, S.; Rupprecht, H. J.; Bickel, C.; Torzewski, M.; Hafner, G.; Tiret, L.; Smieja, M.; Cambien, F.; Meyer, J.; Lackner, K. J. (2003): Glutathione Peroxidase 1 Activity and Cardiovascular Events in Patients with Coronary Artery Disease. In: N Engl J Med. 349(17), 1605-1613.

Böcker, W.; Denk, H.; Heitz, P. U. (2008): Repetitorium Pathologie: Repetitorium zur 4. Auflage des großen Lehrbuchs, Urban-Fischer Verlag/ Elsevier, 4. Auflage, München, S. 499.

Bots, M. L.; Hoes, A. W.; Koudstaal, P. J.; Hofman, A.; Grobbee, D. E. (1997): Common Carotid Intima-Media Thickness and Risk of Stroke and Myocardial Infarction. In: *Circulation*. 96, 1432-1437.

Bronner, L. L.; Kanter, D. S.; Manson, J. E. (1995): Primary prevention of stroke. In: *N Engl J Med*. 333, 1392-1400.

Burke, G. L.; Evans, G. W.; Riley, W. A.; Sharrett, A. R.; Howard, G.; Barnes, R. W.; Rosamond, W.; Crow, R. S.; Rautaharju, P. M.; Heiss, G. (1995): The atherosclerosis risk in community (ARIC) Study: Design and objectives. In: *Stroke*. 26, 386-391.

Carmona-Fonseca, J. (2010): Selenium in serum and plasma: epidemiology and reference values. In: *Rev Panam Salud Publica*. 28(5), 388-398.

Chada, S.; Beau, M. M. L.; Casey, L.; Newburger, P. E. (1990): Isolation and chromosomal location of the human glutathione peroxidase gene. In: *Genomics*. 6, 268-271.

Chambless, L. E.; Folsom, A. R.; Davis, V.; Sharrett, R.; Heiss, G.; Sorlie, P.; Szklo, M.; Howard, G.; Evans, G. W. (1998): Risk Factors for Progression of Common Carotid Atherosclerosis. The Atherosclerosis Risk in Communities Study, 1987–1998.

Chambless, L. E.; Heiss, G.; Folsom, A. R.; Rosamund, W.; Szklo, M.; Sharrett, R.; Clegg, L. X. (1997): Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. In: *American Journal of Epidemiology*. 146 (6), 483-494.

Chen, J. X.; Tuo, Q.; Liao, D. F.; Zeng, H. (2012): Inhibition of protein tyrosine phosphatase improves angiogenesis via enhancing Ang-1/Tie-2 signaling in diabetes. In: *Experimental Diabetes Research*. 2012, 836759.

Clarke, R.; Peden, J. F.; Hopewell, J. C.; Kyriakou, T.; Goel, A.; Heath, S. C.; Parish, S.; Barlera, S.; Franzosi, M. G.; Rust, S.; Bennett, D.; Silveira, A.; Malarstig, A.; Green, F. R.; Lathrop, M.; Gigante, B.; Leander, K.; de Faire, U.; Seedorf, U.; Hamsten, A.; Collins, R.; Watkins, H.; Farrall, M. (2009): Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease. In: *N Engl J Med*. 361, 2518-2528.

Crack, P. J.; Taylor, J. M.; Flentjar, N. J.; De Haan, J.; Hertzog, P.; Iannello, R. C.; Kola, I. (2001): Increased infarct size and exacerbated apoptosis in the glutathione peroxidase-1 (Gpx-1) knockout mouse brain in response to ischemia/reperfusion injury. In: *Journal of Neurochemistry*, 78(6), 1389–1399.

[http://www.csreurope.org/pages/en/demographic\\_change.html](http://www.csreurope.org/pages/en/demographic_change.html)

Dadke, S.; Kusari, A.; Kusari, J. (2001): Phosphorylation and activation of protein tyrosine phosphatase (PTP) 1b by insulin receptor. In: *Molecular and Cellular Biochemistry*. 221 (1-2), 147-154.

Dayal S.; Brown, K. L.; Weydert, C. J.; Oberley, L. W.; Arning, E.; Bottiglieri, T.; Faraci, F. M.; Lentz, S. R. (2002): Deficiency of Glutathione Peroxidase-1 Sensitizes Hyperhomocysteinemic Mice to Endothelial Dysfunction. In: *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 22, 1996.

Depairon, M.; Tutta, P.; Van, M. G.; Hayoz, D.; Kappenberger, L.; Darioli, R. (2000): Reference values of intima-medial thickness of carotid and femoral arteries in subjects aged 20 to 60 years and without cardiovascular risk factors. In: *Arch Mal Coeur Vaiss*. 93(6), 721-726.

<https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/SterbefaelleInsgesamt.html>

Durga, J.; Verhoef, P.; Bots, M. L.; Schouten, E. (2004): Homocysteine and carotid intima-media thickness: a critical appraisal of the evidence. In: *Atherosclerosis*. 176 (1), 1-19.

Elchebly, M.; Payette, P.; Michaliszyn, E.; Cromlish, W.; Collins, S.; Loy, A. L.; Normandin, D.; Cheng, A.; Himms-Hagen, J.; Chan, C. C.; Ramachandran, C.; Gresser, M. J.; Tremblay, M. L.; Kennedy, B. P. (1999): Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase 1b gene. *Science*. 283( 5407), 1544-1548.

Espinola-Klein, C.; Rupprecht, H. J.; Blankenberg, S.; Bickel, C.; Peth, S.; Kopp, H.; Victor, A.; Hafner, G.; Meyer, J.; (2002): Manifestationen der Arteriosklerose in verschiedenen Gefäßregionen  
Gemeinsamkeiten und Unterschiede hinsichtlich Epidemiologie, Ätiologie und Prognose. In: *Medizinische Klinik*. 97(4), 221-228.

Espinola-Klein, C.; Rupprecht, H. J.; Bickel, C.; Schnabel, R.; Genth-Zotz, S.; Torzewski, M.; Lackner, K.; Munzel, T.; Blankenberg, S.; AtheroGene Investigators (2007): Glutathione peroxidase-1 activity, atherosclerotic burden, and cardiovascular prognosis. In: *The American Journal of Cardiology* . 99(6),808-812.

Espinoza, S. E.; Guo, H.; Fedarko, N.; DeZern, A.; Fried, L. P.; Xue, Q. L.; Leng, S.; Beamer, B.; Walston, J. D. (2008): Glutathione peroxidase enzyme activity in aging. In: *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 63 (5), 505-509.

Frost, D.; Friedl, A.; Beischer, W.; (1998): Evaluation of the carotid artery intima-media-thickness: Influences of different methods, characteristics of the subjects, and

investigators. In: Ultraschall in Med. 19 (4), 168-173.

Fukumoto, M.; Shoji, T.; Emoto, M.; Kawagishi, T.; Okuno, Y.; Nishizawa, Y. (2000): Antibodies Against Oxidized LDL and Carotid Artery Intima-Media Thickness in a Healthy Population. In: Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 20, 703.

Gerok, W.; Huber, C.; Meinertz, T.; Zeidler, H. (2007): Die innere Medizin: Referenzwerk für den Facharzt. Schattauer, 11. Auflage, Stuttgart, S. 323 ff.

Goldberg, Y.; Boaz, M.; Matas, Z.; Goldberg, M.; Shargorodsky, M. (2009): Weight loss induced by nutritional and exercise intervention decreases arterial stiffness in obese subjects. In: Clinical Nutrition. 28(1), 21-25.

Gossiau, A.; Rensing, L. (2005) : Oxidativer Stress, altersabhängige Zellschädigungen und antioxidative Mechanismen. In: Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie. 35(2), 139-150.

Grebe, M.T.; Luu, B.; Sedding, D.; Heidt, M. C.; Kemkes-Matthes, B.; Schaefer, C. A.; Tillmanns, H. H.; Gündüz, D. (2010): Fibrinogen promotes early atherosclerotic changes of the carotid artery in young, healthy adults. In: Journal of Atherosclerosis and Thrombosis. 17 (10), 1003-1008.

Grebe, M.T.; Schoene, E.; Schaefer, C. A.; Boedeker, R. H.; Kemkes-Matthes, B.; Voss, R.; Tillmanns, H.H.; (2007) : Elevated Lipoprotein(a) does not promote early atherosclerotic changes of the carotid arteries in young, healthy adults. In: Atherosclerosis, 190(1), 194-198.

Hajjar, K. A.; Gavishi, Dov; Breslow, J. L.; Nachman, R. L. (1989): Lipoprotein(a) modulation of endothelial cell surface fibrinolysis and its potential role in atherosclerosis. In: Nature. 339, 303 – 305.

Halliwell, B. (1992): Reactive Oxygen Species and the Central Nervous System. In: Journal of Neurochemistry. 59(5), 1609–1623.

Halliwell, B. (1944): Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? In: Lancet. 344, 721-724.

Hamanishi, T.; Furuta, H.; Kato, H.; Doi, A.; Tamai, M.; Himomura, H.; Sakagashira, S.; Nishi, M.; Sasaki, H.; Sanke, T.; Nanjo, K. (2004) : Functional Variants in the Glutathione Peroxidase-1 (*GPx-1*) Gene Are Associated With Increased Intima-Media Thickness of Carotid Arteries and Risk of Macrovascular Diseases in Japanese Type 2 Diabetic Patients. In: Diabetes. 53(9), 2455-2460.

Hansen, W. (2007). Medizin des Alterns und des alten Menschen. Schattauer Verlag. 1. Auflage, Stuttgart, S. 144 ff.



- He, T. (2009): Aging decreases expression and activity of glutathione peroxidase-1 in human endothelial progenitor cells. In: *Microvasc Res.* 78(3), 447-452.
- Heitzer, T.; Schlinzig, T.; Krohn, Karoline; Meinertz, T.; Münzel, Thomas (2001): Endothelial Dysfunction, Oxidative Stress, and Risk of Cardiovascular Events in Patients With Coronary Artery Disease. In: *Circulation.* 104, 2673-2678.
- Hodis, H. N.; Mack, W. J.; LaBree, L.; Selzer, R. H.; Liu, Chao-ran; Ci-hua Liu, Stanley P. Azen (1998): The Role of Carotid Arterial Intima-Media Thickness in Predicting Clinical Coronary Events. In: *Annals of Internal Medicine.* 128(4), 262-269.
- Howard, G.; Burke, G. L.; Szklo, M.; Tell, G. S.; Eckfeldt, J.; Evans, G.; Heiss, G. (1994): Active and Passive Smoking Are Associated With Increased Carotid Wall ThicknessThe Atherosclerosis Risk in Communities Study. In: *Arch Intern Med.* 154(11), 1277-1282.
- Howard, G.; Sharrett, A. R.; Heiss, G.; Evans, G. W.; Chambless, L. E.; Riley, W. A.; Burke, G. L. (1993): Carotid artery intimal-medial thickness distribution in general populations as evaluated by B-mode ultrasound. ARIC Investigators. In: *Stroke.* 24, 1297-1304.
- Huerta, J. M.; Gonzáles, S.; Fernández, S.; Patterson, A. M.; Lasheras, C. (2004): No evidence for oxidative stress as a mechanism of action of hyperhomocysteinemia in humans. In: *Free Radic Res.* 38(11), 1215-1221.
- Hulthe, J.; Bokemark, L.; Fagerberg, B. (2001): Antibodies to oxidized LDL in relation to intima-media thickness in carotid and femoral arteries in 58-year-old subjectively clinically healthy men. In: *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 21(1), 101-107.
- Hulthe, J.; Fagerberg, B. (2002): Circulating Oxidized LDL Is Associated With Subclinical Atherosclerosis Development and Inflammatory Cytokines (AIR Study). In: *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 22, 1162.
- Igleseder, B.; Cip, P.; Malaimare, L.; Ladurner, G.; Paulweber, B. (2005): The metabolic syndrome is a stronger risk factor for early carotid atherosclerosis in women than in men. In: *Stroke.* 36, 1212.
- Jablonska, E.; Gromadzinska, J.; Reszka, E.; Wasowicz, W.; Sobala, W.; Szeszenia-Dabrowska, N.; Boffetta, P. (2009): Association between GPx1 Pro198Leu polymorphism, GPx1 activity and plasma selenium concentration in humans. In: *Eur J Nutr.* 48(6), 383-6.
- Johnsen, S. H.; Mathiesen, E. B.; Joakimsen, O.; Stensland, E.; Wilsgaard T.; Lochen, M. L.; Njolstad, I.; Arnesen, E. (2007): Carotid atherosclerosis is a stronger predictor of myocardial infarction in women than in men. In: *Stroke.* 38, 2873.

- Kampus, P.; Kals, J.; Ristimäe, T.; Muda, P.; Ulst, K.; Zilmer, K.; Salonen, R. M.; Tuomainen, T. P.; Teesalu, R.; Zilmer, M. (2007): Augmentation index and carotid intima-media thickness are differently related to age, C-reactive protein and oxidized low-density lipoprotein. In: *Journal of Hypertension*. 25(4), 819-825.
- Kaps, M.; von Reutern, G.M.; Stolz E.; von Büdingen H. J. (2005): *Ultraschall in der Neurologie*. Thieme Verlag, 2. korrigierte Auflage, Stuttgart, S. 41 f.
- Kinscherf, R.; Metz, J. (2000): The importance of oxidative stress in the pathology of vessel wall alterations. In: *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin*. 51(1).
- Klaman, L. D.; Boss, O.; Peroni, O. D.; Kim, J. K.; Martino, J. L.; Zabolotny, J. M.; Moghal, N.; Lubkin, M.; Kim, Y. B.; Sharpe, A. H.; Stricker-Krongrad, A.; Shulman, G. I.; Neel, B. G.; Kahn, B. B. (2000): Increased energy expenditure, decreased adiposity, and tissue-specific insulin sensitivity in protein-tyrosine phosphatase 1B-deficient mice. In: *Mol Cell Biol*. 20 (5), 5479-5489.
- Kumar, V.; Abbas, A. K.; Fausto, N.; Mitchell, R. (2007): *Robbins Basic Pathology*. Saunders Elsevier, 8. Auflage, Philadelphia, S. 348-351.
- Law, M. R.; Wald, N. J.; Wu, T.; Hackshaw, A.; Bailey, A. (1994): Systematic underestimation of association between serum cholesterol concentration and ischaemic heart disease in observational studies: data from the BUPA study. In: *BMJ*. 308, 363.
- Lebuffe, G., Schumacker, P. T.; Shao, Zuo-Hui; Anderson, T.; Iwase, H; Vanden Hoek, T. L. (2003): ROS and NO trigger early preconditioning: relationship to mitochondrial KATP channel. In: *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284, 299-308.
- Lee, A. J.; Mowbray, P. I.; Lowe, G. D.O.; Rumley, A.; Fowkes, F. G. R.; Allan, P. L. (1998): R: Blood Viscosity and Elevated Carotid Intima-Media Thickness in Men and Women. The Edinburgh Artery Study . In: *Circulation*. 97, 1467-1473.
- Lim, T.; Dwivedi, G.; Kooner, J.; Senior, R. (2007): Normal value of carotid intima-media-thickness - a surrogate marker of atherosclerosis: quantitative assessment by B-mode carotid ultrasound. In: *J Am Soc Echocardiogr*. 21(2), 112-116.
- Lorenz, M. W.; Markus, H. S.; Bots, M. L.; Rosvall, M.; Sitzer, M. (2007): Prediction of clinical cardiovascular events with carotid Intima-Media Thickness. In: *Circulation*. 115, 459-467.
- Lubos, E.; Loscalzo, J.; Handy, D. E. (2007): Homocysteine and glutathione peroxidase-1. In: *Antioxid Redox Signal*. 9(11), 1923-1940.
- Matsuda, A.; Kimura, M.; Itokawa, Y. (1997): Selenium level and glutathione peroxidase activity in plasma, erythrocytes and platelets of healthy Japanese volunteers. In: *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 43(5), 497-504.

- Maurya, P. K.; Kumar, P.; Siddiqui, N.; Tripathi, P. (2010): Age-associated changes in erythrocyte glutathione peroxidase activity: Correlation with total antioxidant potential. In: Indian Journal of Biochemistry and Biophysics. 47, 319-321.
- Mayer, E. L.; Jacobsen, D. W.; Robinson, K. (1996): Homocysteine and coronary atherosclerosis. In: Journal of the American College of Cardiology. 27(3), 517-527.
- Metso, S.; Loimaala, A.; Mercuri, M. F.; Nenonen, A.; Vuori, I.; Oja, P.; Bond, M. G.; Laine, S.; Rontu, R.; Lehtimäki, T. (2004): Circulating Oxidized Low-Density Lipoprotein and Common Carotid Artery Intima-Media Thickness in a Random Sample of Middle-Aged Men. In: Journal of Biomedical Science. 11(3), 356-361.
- Miller, E. R.; Erlinger, T. P.; Sacks, F. M.; Svetkey, L. P.; Charleston, J.; Lin, P. H.; Appel, L.J. (2005): A dietary pattern that lowers oxidative stress increases antibodies to oxidized LDL: results from a randomized controlled feeding study. In: Atherosclerosis. 183(1), 175-182.
- Mills, G. C. (1957): Hemoglobin Catabolism I. Glutathione Peroxidase , an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. In The Journal of Biological Chemistry. 229, 189-197.
- Moradi, M.; Hassan, E. M.; Talei, A.; Rajaei, F. A. (2009): A comparative study of selenium concentration and glutathione peroxidase activity in normal and breast cancer patients. In: Public Health Nutr. 12(1), 59-63.
- Moriarty, P. M.; Reddy, C. C.; Maquat, L. E. (1998): Selenium Deficiency Reduces the Abundance of mRNA for Se-Dependent Glutathione Peroxidase 1 by a UGA-Dependent Mechanism Likely To Be Nonsense Codon-Mediated Decay of Cytoplasmic mRNA. In: Mol Cell Biol. 18(5), 2932-2939.
- Müller, A. (2008): Specific physiological features of inorganic selenium compounds regarding metabolism : in vivo and in vitro investigations with type II diabetic mice and healthy rats, Gießen.
- Mulac, K. (2005): Pathomechanismen der Arteriosklerose bei Diabetes mellitus. In: Journal für Kardiologie. 12 (1-2), 9-14.
- Nicholls, S.J. (2009): Relationship between LDL, HDL, blood pressure and atheroma progression in the coronaries. In: Curr Opin Lipidol. 20(6), 491-496.
- O'Leary, D. H.; Polak, J. F.; Kronmal, R. A.; Manolio, T. A.; Burke, G. L.; Wolfson S. K. (1999): Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. In: N Engl J Med. 340, 15 – 22.

- Paiker, J. E.; Raal, F. J.; Von Arb, M. (2000): Auto-antibodies against oxidized LDL as a marker of coronary artery disease in patients with familial hypercholesterolaemia. In: *Ann Clin Biochem.* 37, 174-178.
- Pignoli, P.; Tremoli, E.; Poli, A.; Oreste, P.; Paoletti, R. (1986): Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. In: *Circulation.* 74 (6), 1399-1406.
- Poredos, P. (2004): Intima-media thickness: indicator of cardiovascular risk and measure of the extent of atherosclerosis. In: *Vasc Med.* 9, 46.
- Pöss, J.; Böhm M.; Laufs, U. (2010): HDL and arteriosclerosis - An interesting aim for reducing cardiovascular events. In: *Klinikerzt.* 39(3), 130-135.
- Polak, J. F.; Meisner, A., Pencina, M. J.; Wolf P. A.; D'Agostino R. B. (2011): Lipid-lowering therapy decreases common carotid artery intima-media thickness progression in individuals free of prevalent cardiovascular diseases: In: *The Framingham Heart Study. Circulation,* 123, 13376.
- Raitakari, O. T.; Juonala, M., Kähönen, M.; Taittonen, L.; Laitinen, T.; Mäki-Torkko, N.; Jarvisalo, M. J.; Uhari, M.; Jokinen, E., Rönkämaa, T.; Åkerblom, H. K.; Viikari, J. S. A. (2003): Cardiovascular Risk Factors in Childhood and Carotid Artery Intima-Media Thickness in Adulthood - The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. In: *JAMA.* 290, 2277-2283.
- Rayman, M. P (2012): Selenium and human health. In: *Lancet.* 379, 1256-68.
- Ringleb, P. A. (2009): Diabetes mellitus, Intima-Media-Dicke und Stenosen der A. carotis. In: *Der Diabetologe.* 5(8), 628-636.
- Roch, B.; Kopprasch, J.; Pietzsch, S.; Schröder, H. E. (2004): Oxidativ modifizierte Lipoproteine und deren Antikörper bei Patienten mit Antiphospholipidsyndrom und Systemischem Lupus erythematodes. In: *Zeitschrift für Rheumatologie.* 63(4), 331-333.
- Ross, R.; Harker, L. (1976): Hyperlipidemia and atherosclerosis. In: *Science.* 193(4258), 1094-1100.
- Rosvall, M.; Östergren; P. O.; Hedblad, B.; Isacsson, S. O.; Janzon, L.; Berglund, G. (2000): Occupational status, educational level and the prevalence of carotid atherosclerosis in a general population sample of middle-aged swedish men and women. In: *American Journal of Epidemiology.* 152(4), 334-346.
- Rotruck, J. T.; Pope, A. L.; Ganther, H. E.; Swanson, A. B.; Hafeman, D. G.; Hoekstra, W. G. (1973): Selenium: Biochemical Role as a Component of Glutathione Peroxidase. In: *Science.* 179(4073), 588 – 590.
- Rudich, A.; Kozlovsky, N.; Potashnik, R.; Bashan, N. (1997): Oxidant stress reduces insulin responsiveness in 3T3-L1 adipocytes. In: *Am J Physiol.* 272, E935–940.

Rudich, A.; Tirosh, M.; Khamaisi, D.; Pessler, R.; Potashnik, R.; Bashan, N. (1998); Putative role for oxidative stress in adipocyte and skeletal muscle insulin resistance. In: *Diabetologia*. 41(1), A34.

Rückgauer, M.; Neugebauer, R. J.; Plecko, T. (2001): The relation between selenium, zinc and copper concentration and the trace element dependent antioxidative status. In: *J Trace Elem Med Biol*. 15(2-3), 73-78.

Salonen, J. T.; Salonen, R. (1991): Ultrasonographically assessed carotid morphology and the risk of coronary heart disease. In: *Arteriosclerosis and Thrombosis*. 11, 1245-1249.

Scanu, A. M.; Lawn, R. M.; Berg K. (1991): Lipoprotein(a) and Atherosclerosis. In: *Annals of internal medicine*. 115(3), 209-218.

Schächinger, V.; Britten, M.; Zeiher, A. M. (2000): Prognostic Impact of Coronary Vasodilator Dysfunction on Adverse Long-Term Outcome of Coronary Heart Disease. In: *Circulation*. 101, 1899-1906.

Seely, B. L.; Staubs, P. A.; Reichart, D. R.; Berhanu, P.; Milarski, K. L.; Saltiel, A. R.; Kusari, J.; Olefsky, J. M. (1996): Protein Tyrosine Phosphatase 1B interacts with the activated insulin receptor. In: *Diabetes*. 45 (10), 1379-1385.

Shah, D. I.; Singh, M. (2006): Inhibition of protein tyrosin phosphatase improves vascular endothelial dysfunction. In: *Vascul Pharmacol*. 44(3), 177-182.

Shi, K.; Egawa, K.; Maegawa, H.; Nakamura, T.; Ugi, S.; Nishio, Y.; Kashiwagi, A. (2004): Protein-tyrosine phosphatase 1B associates with insulin receptor and negatively regulates insulin signaling without receptor internalization. In: *Journal of Biochemistry*. 136 (1), 89-96.

Signorelli, S. S.; Neri, S.; Di Pino, L.; Costa, M. P.; Pennisi, G.; Digrandi, D.; Ierna, D. (2001): Oxidative stress and endothelial damage in patients with asymptomatic carotid atherosclerosis. In: *Clin Exp Med*. 1, 9-12.

Stanek, B. (2003): Das "kranke" Endothel. In: *Journal für Hypertonie*. 7(2), 11-16.

Stary, H. C. (1987): Macrophages, macrophage foam cells, and eccentric intimal thickening in the coronary arteries of young children. In: *Atherosclerosis*. 64(2), 91-108.

Stary H. C. (2000): Lipid and macrophage accumulations in arteries of children and the development of atherosclerosis. In: *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(5), 1297S-1306S.

Sun, H.; Unoki, H.; Wang, X.; Liang, J.; Ichikawa, T.; Arai, Y.; Shiomi, M.; Marcovina, S. M.; Watanabe, T.; Fan, J. (2002): Lipoprotein a enhances advanced atherosclerosis

and vascular calcification in WHHL transgenic rabbits expressing human apolipoprotein a. In: J Biol Chem. 277 (49), 47486-47492.

Targonska-Stepniak, B.; Dryglewska, M.; Majdan, M. (2010): Adiponectin and leptin serum concentrations in patients with rheumatoid arthritis. Rheumatol Int. 30(6), 731-737.

Temelkova-Kurktschiev, T.; Fischer, S.; Koehler, C.; Mennicken, G.; Henkel, E.; Hanefeld, M. (2001): Intima-Media-Dicke bei Gesunden ohne Risikofaktoren für Arteriosklerose. In: Deutsche med Wochenschr. 126(8), 193-197.

Ting, H. H.; Timimi, F. K.; Boles, K. S.; Creager, S. J.; Ganz, P.; Creager, M. A. (1996): Vitamin C improves endothelium-dependant vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. In: JCI. 97(1), 22-28.

Tivig, T.; Hetze, P. (2007): Deutschland im Demographischen Wandel. Klatschmohn Verlag, 1. Auflage, S. 11.

Toyokuni S. (1999): Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. In: Pathology International. 49(2), 91–102.

Trop, S.; Tremblay, M. L.; Bourdeau, A. (2008): Modulation of bone marrow-derived endothelial progenitor cell activity by protein tyrosine phosphatases. In: Trends Cardiovasc Med. 18(5), 180-6.

Tsompanidi, E. M.; Brinkmeier, M. S.; Fotiadou, E. H.; Giakoumi, S. M.; Kypreos, K. E. (2010): HDL biogenesis and functions: Role of HDL quality and quantity in atherosclerosis. In: Atherosclerosis. 208(1), 3-9.

Van den Berg, M.; Franken, D. G.; Boers, G. H.; Blom, H. J.; Jakobs, C.; Stehouwer, C. D.; Rauwerda, J. A. (1994): Combined Vitamin B6 plus folic acid therapy in young patients with arteriosclerosis and hyperhomocysteinemia. In: Journal of Vascular Surgery. 20(6), 933-940.

Van Tits, L. J.; Van Himbergen, T. M.; Lemmers, H. L.; De Graaf, J.; Stalenhoef, A. F. (2006): Proportion of oxidized LDL relative to plasma apolipoprotein B does not change during statin therapy in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. In: Atherosclerosis. 185(2), 307-312.

Vasankari, T.; Ahotupa, M.; Toikka, J.; Mikkola, J.; Irjala, K.; Pasanen, P.; Neuvonen, K.; Raitakari, O.; Viikari, J. (2001): Oxidized LDL and thickness of carotid intima-media are associated with coronary atherosclerosis in middle-aged men: lower levels of oxidized LDL with statin therapy. In: Atherosclerosis. 155(2), 403-412.

Velmurugan, K.; Deepa, R.; Ravikumar, R.; Lawrence, J. B.; Anshoo, H. (2003); Senthilvelmurugan M, Enas EA, Mohan V: Relationship of lipoprotein(a) with intimal

medial thickness of the carotid artery in Type 2 diabetic patients in south India. In: Diabet Med. 20(6), 455-461.

Weinbrenner, T.; Schröder, H.; Escurriol, V.; Fito, M.; Elosua, R.; Vila, J.; Marrugat, J.; Covas, M. I. (2006): Circulating oxidized LDL is associated with increased waist circumference independent of body mass index in men and women. In: American Journal of Clinical Nutrition. 83(1), 30-35.

Wendelhag, I.; Wiklund, O.; Wikstrand, J. (1992): Arterial wall thickness in familial hypercholesterolemia. Ultrasound measurement of intima-media thickness in the common carotid artery. In: Arteriosclerosis and Thrombosis 12, 70-77.

Willinek, W. A.; von Falkenhausen, M.; Strunk, H.; Schild, H. H. (2000): Tissue harmonic imaging im Vergleich zum konventionellen Ultraschall: Einfluss auf Bildqualität und Untersuchervariabilität bei der Messung der Intima-Media-Dicke in der Arteria carotis communis. In: Fortschr Röntgenstr. Thieme Verlag. 172(7): 641-645.

Wilson, P. W. F.; Hoeg, J. M.; D'Agostino, R. B.; Silbershatz, H.; Belanger, A. M.; Poehlmann, H.; O'Leary, D.; Wolf, P. A. (1997): Cumulative Effects of High Cholesterol Levels, High Blood Pressure, and Cigarette Smoking on Carotid Stenosis. In: N Engl J Med. 337, 516-522.

Wink, D. A.; Hanbauer, I.; Krishna, M. C.; DeGraff, W.; Gamson, J.; Mitchell, J. B. (1993): Nitric oxide protects against cellular damage and cytotoxicity from reactive oxygen species. In: PNAS. 90(21), 9813-9817.

Wolitzky, B. A. (1996): The role of E-selectin and P-selectin in inflammatory disease. In: Peltz G, ed. Leukocyte recruitment in inflammatory disease. Springer Verlag, New York. 211-245.

World Health Organization: Classification of Atherosclerotic Lesions, Report of a Study Group, Technical Report Series, No. 143, Genf, 1958  
[http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_143.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_143.pdf)

Yamamoto, M.; Egusa, G.; Yamakido, M. (1997): Carotid Atherosclerosis and Serum Lipoprotein(a) Concentrations in Patients With NIDDM. In: Diabetes Care. 20(5), 829-831.

Zawadzka-Bartczak, E. (2005): Activities of red blood cell anti-oxidative enzymes (SOD, GPx) and total anti-oxidative capacity of serum (TAS) in men with coronary atherosclerosis and in healthy pilots. In: Med Sci Monit. 11(9), 440-444.

Zmijewski, J. W.; Moellering, D. R.; Le Goffe, C.; Landar, A.; Ramachandran, A.; Darley-Usmar, V. M. (2005): Oxidized LDL induces mitochondrially associated reactive oxygen/nitrogen species formation in endothelial cells. In: Am J Physiol Heart Circ Physiol. 289, H852-H861.

## 9. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all den Personen bedanken, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

Zunächst möchte ich Herrn Prof. Dr. Daniel Sedding für die Überlassung des Themas sowie fortwährende Unterstützung danken.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Mathias Grebe, der mich während der Promotionsphase stets unterstützt hat, immer ansprechbar und durch seine Anregungen sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat. Weiterhin möchte ich meinen herzlichen Dank an Frau Sabine Schäfer aussprechen, die mir stets eine Freundin war und mich sehr bei den Laborarbeiten unterstützt hat.

Bei Herrn Prof. Dr. Andreas Müller möchte ich mich ebenfalls für die Unterstützung bei den laborchemischen Arbeiten bedanken.

Herrn Dr. H. Bödeker sowie Frau C. Scheibelhut danke ich sehr für die Unterstützung in der statistischen Auswertung der Daten.

Ein ganz besonderer und herzlicher Dank gilt meiner Familie für die Unterstützung, die Kraft und die Liebe, die mich all die Jahre durch mein Studium begleitet haben.

Ebenso möchte ich allen Probanden, die an dieser Studie teilnahmen, meinen Dank aussprechen wie auch all denen, die hier nicht namentlich Erwähnung fanden, aber zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.



## 10. Erklärung zur Dissertation

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

---

Ort, Datum

---

Unterschrift